

PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

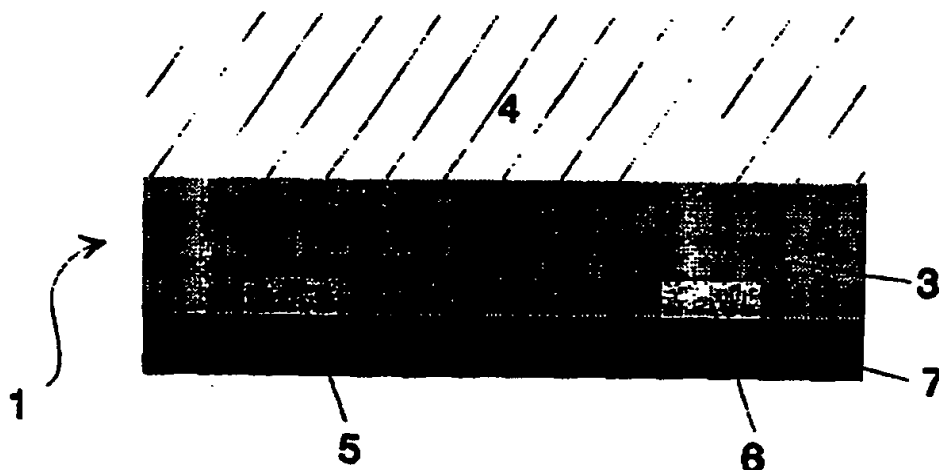


(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : G01N 27/12	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/12176 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. April 1996 (25.04.96)
--	-----------	---

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE95/01458 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. Oktober 1995 (17.10.95) (30) Prioritätsdaten: P 44 37 274.4 18. Oktober 1994 (18.10.94) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTITUT FÜR CHEMO- UND BIOSENSORIK MÜNSTER E.V. [DE/DE]; Mendelstrasse 7, D-48149 Münster (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CHOULGA, Alexan- dre [UA/DE]; Kolde-Ring 60, D-49151 Münster (DE). AHLERS, Benedikt [DE/DE]; Theodor-Heuss-Strasse 22, D-48167 Münster (DE). CAMMANN, Karl [DE/DE]; Akazienallee 1, D-48155 Münster (DE). (74) Anwalt: PFENNING, MEINIG, BUTENSCHÖN, BERGMANN, NÖTH, REITZLE, KRAUS; Mozart- strasse 17, D-80336 München (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
---	---

(54) Title: ANALYTE-SELECTIVE SENSOR

(54) Bezeichnung: ANALYTSELEKTIVER SENSOR



(57) Abstract

The invention concerns an analyte selective sensor for the qualitative and/or quantitative determination of ions or substances contained in solution. The proposed sensor (1) comprises at least one analyte-specific layer (3) deposited on an inert carrier (7) and in contact with the solution; this analyte-specific layer consists of a liquid, solid or semi-solid material and is in contact with at least two electrodes (5, 6). The layer (3) selectively removes the analyte from the solution so that its own electrical characteristics, such as resistance, conductivity, admittance or impedance, change as the analyte is taken up.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen analytselektiven Sensor (ASS) zur qualitativen und/oder quantitativen Bestimmung von in Lösungen enthaltenen Ionen bzw. Stoffen, wobei der ASS (1) aus mindestens einer mit der Lösung in Kontakt stehenden, auf einem inerten Träger (7) aufgetragenen analytspezifischen Schicht (3) aus einem flüssigen, festen oder halbfesten Material, besteht, die mit mindestens zwei Elektroden (5, 6) in Verbindung steht, wobei die Schicht (3) den Analyten selektiv aus der Lösung entfernt, so daß sich durch Aufnahme des Analyten die elektrischen Eigenschaften der Schicht (3), wie der Widerstand, die Leitfähigkeit, die Admittanz oder die Impedanz, ändert.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäß dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauritien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Gambia	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Analytselektiver Sensor

5 Die Erfindung betrifft einen analytselektiven Sensor,
der aus einer analytspezifischen Schicht besteht, die
so modifiziert ist, daß in Lösungen enthaltene Ionen
oder neutrale Spezies mit der Schicht in Kontakt tre-
ten können, so daß dann eine Änderung der elektri-
10 schen Eigenschaften eintritt.

Zur Bestimmung von Ionen in Lösungen wird vielfach
die potentiometrische ionenselektive Elektrode ver-
wendet (Cammann, K. Die Arbeit mit Ionenselektiven
15 Elektroden, 2. Aufl., Springer Verlag: Berlin, Hei-
delberg, New York, 1977). Ionenselektive Elektrode
sind elektrochemische Sensoren, mit denen die Konzen-
tration (genauer die Aktivität) bestimmter Ionen mit-
tels einer Potentialdifferenz bestimmt werden kann.
20 Die ionenselektive Potentialdifferenz tritt an der
Phasengrenze aktives Elektrodenmaterial/Elektrolyt

auf und hängt gemäß der Nernst-Gleichung von der Aktivität eines bestimmten Ions in der Lösung ab.

Die Notwendigkeit einer Referenzelektrode ist der entscheidende Nachteil bei dem Einsatz potentiometrischer Messungen zur Bestimmung von Ionenaktivitäten in Lösung. Anders als bei Widerstand und Kapazität haben die Absolutwerte des elektrischen Potentials keine physikalische Bedeutung, da das Potential nur in Bezug auf einen Referenzwert definiert werden kann. In der Elektrochemie wird solch ein Referenzwert gewöhnlich vom Potential der Referenzelektrode geliefert.

Die andere grundlegende Einschränkung bei den potentiometrischen Analysemethoden betrifft die Zusammensetzung der ionenselektiven Membran. Die Anforderungen an die Natur der spezifischen Bindung und/oder der komplexierenden Stellen innerhalb der Membran sind so zu stellen, daß die Potentialdifferenz an der Grenzfläche Membran/Lösung selektiv in Abhängigkeit von der Anwesenheit einer bestimmten Spezies in der Lösung aufgebaut wird. Zum Beispiel sollte diese Bindung nicht zu stark sein, so daß ein genügend schneller Austausch der detektierten Spezies zwischen der Membranphase und der Lösung möglich ist.

Neben den potentiometrischen sind die am häufigsten verwendeten elektrochemischen Analyseverfahren diejenigen, die den Stromfluß durch eine passend angefertigte oder modifizierte leitende oder halbleitende Arbeitselektrode messen. Das Potential dieser Elektrode wird durch das der Referenzelektrode festgelegt. Der gemessene Stromfluß resultiert aus der elektrochemischen Redoxreaktion, die an der Grenzflä-

che Arbeitselektrode/Lösung abläuft. Zusätzlich zu der erforderlichen Referenzelektrode wird der Einsatz dieser Meßverfahren noch dadurch eingeschränkt, daß die gemessene Spezies bei dem an der Arbeitselektrode angelegten Arbeitspotential elektroaktiv sein muß und somit nur eine begrenzte Auswahl an Analyten gemessen werden kann. Außerdem muß dieses Potential von dem der störenden Spezies verschieden sein. Das letztere stellt häufig ein Problem dar, da viele chemische oder große Gruppen chemischer Verbindungen sehr ähnliche Redox Eigenschaften aufweisen. Zum anderen liegen die erforderlichen elektropotentiale für viele Verbindungen außerhalb des praktisch anwendbaren Bereichs.

Zu den zur spezifischen Erkennung von geladenen und neutralen Spezies meist verwendeten nicht-elektrochemischen Verfahren gehören die verschiedenen Arten der Flüssigchromatographie. In diesem Fall wird die zu analysierende Probe in Kontakt gebracht mit einer sogenannten stationären Phase, z.B. einer Polymerschicht, die die detektierte Spezies spezifisch bindet oder zurückhält. Die Stärke dieser Bindung bestimmt die Retentionszeit des Analyten innerhalb der chromatographischen Säule. Unter Verwendung maßgeschneiderter stationärer Phasen können sehr viele Spezies identifiziert werden. Allerdings ist dieser Typ der analytischen Meßanordnung sehr komplex und teuer.

Die andere wichtige Klasse der analytischen Verfahren zur Detektion von geladenen und ungeladenen Spezies in gasförmigem oder flüssigem Medium macht Gebrauch von der Messung des Widerstandes oder der Kapazität. Änderungen der Leitfähigkeit oder der dielektrischen

Eigenschaften einer Schicht eines sensitiven Materials werden in Abhängigkeit von den Wechselwirkungen mit der detektierten Spezies angezeigt. So finden im Bereich der Detektion von Gasen Widerstands- und kapazitive Sensoren eine breite Verwendung.

Im Gegensatz dazu trifft man nur gelegentlich auf die Anwendung solcher Sensoren bei chemischen Analysen in Flüssigkeiten. Die Messungen der totalen Leitfähigkeit von Elektrolytlösungen sind nur von begrenzter analytischer Bedeutung, weil es ihnen im allgemeinen an Spezifität mangelt. Ein derartiges Verfahren wird von R.S. Sethi et al. in der GB 22 04 408 A beschrieben. In dieser Schrift wird ein konduktometrischer Enzym-Biosensor vorgeschlagen, der Inter-Digitale fingerähnliche Elektroden (IDE) besitzt, welche durch eine Membran aus immobilisierter Urease abgedeckt werden. In Anwesenheit von Harnstoff in der Testlösung erlaubt die Verwendung von dicht angeordneten Elektroden die Messung der Leitfähigkeit der Lösung, mit der die Enzymschicht abgesättigt ist, sofern sich die Leitfähigkeit spezifisch zur Hydrolyse des Harnstoffs verändert, die durch die Urease katalysiert wird. Zu den Schwächen solcher Biosensoren gehört die drastische Abnahme der Empfindlichkeit des Biosensors mit zunehmender Pufferkapazität und/oder Ionenstärke (Leitfähigkeit) der Lösung.

Die WO 93/06 237 beschreibt die Verwendung von IDE's zur Messung der Leitfähigkeitsänderung einer Schicht elektroaktiv leitender Polymers (Polyanilin, Polypyrrol). Diese Änderungen resultieren aus der Wechselwirkung der funktionellen Redoxgruppen des Polymers mit den in der Lösung anwesenden interessierenden Spezies oder mit Spezies, die aus einer Enzymreaktion

in der Schicht des immobilisierten Enzyms resultieren, welche von oben auf die Schicht des besagten Polymers aufgebracht wird.

5 L.S. Raymond et al. beschreibt in der GB 21 37 361 eine Anordnung zur kapazitiven Detektion, die folgende Bestandteile enthält:

- 10 (I) ein Kondensator bestehend aus zwei IDE;
- (II) eine erste Schicht aus elektrisch isolierendem Material, die die elektrisch leitende Elektrode abdeckt und gegenüber der zu analysierenden Lösung abschirmt;
- 15 (III) eine zweite Schicht eines Materials, die die erste Schicht abdeckt, wobei die zweite Schicht für eine spezifische nicht-wässrige Substanz in einer Lösung durchlässig ist, welche durch ihr Eintreten in das elektrische Feld zwischen den IDE's eine Änderung
- 20 der Kapazität des Kondensators bewirkt.

Die zweite Schicht enthält zum Beispiel das selektiv für Kaliumionen durchlässige Valinomycin. Die Interdigitalelektroden messen die Änderungen der Kapazität als Folge der spezifischen Aufnahme von Ionen in die Valinomycinschicht.

25

Die GB 21 37 361 liefert jedoch keine Beschreibung der Membranzusammensetzung, d.h. es fehlen Angaben zu den Bedingungen, die notwendig sind, um die erforderliche Durchlässigkeit der sensitiven zweiten Schicht in Bezug auf die interessierenden Spezies sicherzustellen. Andererseits schränken solche Bedingungen in großem Umfang die Anzahl der detektierbaren Spezies ein. Die Notwendigkeit der Abschirmung der leitenden

30

35

Elektroden durch eine isolierende Schicht erschwert die Herstellung des Transducers wegen der hohen Ansprüche an die Qualität solch einer Schicht und verschlechtert gleichzeitig die Sensorenempfindlichkeit.
5 Ein weiteres Problem ist eine nicht auszuschließende sprunghafte Änderung der Dielektrizitätskonstanten der Meßschicht in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der zu analysierenden Lösung.

10 Ausgehend hiervon, ist es die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein neuartiges Sensorkonzept und entsprechende Sensoren vorzuschlagen, die es erlauben, in Lösung enthaltene Ionen oder neutrale Spezies
15 quantitativ und/oder qualitativ über eine Absolutmessung zu bestimmen, so daß auf Referenzelektroden verzichtet werden kann.

Die Lösung dieser Aufgabe erfolgt durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruches 1. Die Unteran-
20 sprüche zeigen vorteilhafte Weiterbildungen auf.

Erfindungsgemäß wird somit vorgeschlagen, einen Sensor zu verwenden, der auf einem Träger eine analyt-
25 spezifische Schicht aus einem flüssigen, festen oder halbfesten Material aufweist, die so ausgebildet ist, daß sie bei Kontakt mit den in der Lösung enthaltenen Ionen bzw. Stoffen ihre bulkelektrischen Eigenschaften, wie den Widerstand, die Leitfähigkeit, die Admittanz oder die Impedanz ändert.

30 Für die Messung der elektrischen Eigenschaften der analytspezifischen Schicht ist es dabei vorgesehen, daß bevorzugt mindestens zwei Elektroden verwendet werden, die mit der analytspezifischen Schicht in
35 Kontakt stehen. Dazu wird die analytspezifische

Schicht direkt auf der Leiteroberfläche gebildet. Für diesen Typ von Messungen können dabei Standard zwei - oder vier - Elektrodenanordnungen verwendet werden.

5 Die für die Herstellung der festen oder halbfesten bzw. porösen Meßelektronen verwendeten leitfähigen Materialien können Stoffe sein, die aufgrund der Beweglichkeit von Elektroden bzw. von Defektstellen Eigenschaften eines elektrischen Leiters, eines Halbleiters oder eines Defektstellenleiters aufweisen.
10 Beispiele hierfür sind:

- edle Metalle (Ag, Au, Pt, Pd,...);
- andere ausreichend chemisch stabile Metalle
15 (Ni, Ta, Ti, Cr, Cu, V, Al,...);
- leitfähige Pasten und Metall- oder Graphitpartikel enthaltende Epoxidharze;
- Materialien auf Kohlenstoffbasis (Kohlenstofffasern, Glaskohlenstoff, Graphit);
- 20 · hochdotiertes Silizium (Poly-Si);
- leitfähige Polymere (Polypyrrol, Polyanilin, Polyacetylen);
- zusammengesetzte leitende Polymere, die Metall- oder Graphitpartikel enthalten.

25 Die Leiter können freistehend sein, beispielsweise in der Form von Stäben, Drähten bzw. Maschen auftreten oder in Plastik oder andere isolierende Träger eingebettet sein, die nur die Membrankontaktfläche freilassen. Der exponierte Teil kann zum Beispiel in der
30 Form von Scheiben oder Bändern vorliegen.

Alternativ dazu können die Leiter auch auf einem isolierenden Träger in Form von dicken oder dünnen

Schichten gebildet werden, hergesellt mit Hilfe von Siebdruck, durch chemische oder elektrochemische Polymerisation oder -abscheidung (das letztere im Fall von Metallen), durch Vakuumaufdampfung, Sputtern oder andere Techniken der Dick- und Dünnschichttechnologien. Die auf einem isolierenden Träger aufgebrachten Leiter können zum Beispiel in der Form von Bändern, Kreisen, Scheiben oder Interdigitalelektroden (IDE) vorliegen. Die Leiter können auf den selben oder den entgegengesetzten Seiten des Trägers angeordnet sein, in einer Ebene oder vertikal voneinander getrennt.

Die Oberfläche der Meßelektrode muß nicht notwendigerweise glatt oder poliert sein. Sie kann absichtlich rauh gemacht werden, um einen besseren Kontakt zu der Schicht herzustellen und den Grenzflächenwiderstand zu senken. Ein möglicher Weg ist die Verwendung von platinisierten Platinelektroden oder von chloridierten Silberelektroden.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform schlägt vor für den Fall, daß erhöhte elektrochemische Grenzstände zwischen den Leitern und der Schicht auftreten eine zusätzliche Schicht zwischen den Leitern und der analytselektiven Schicht anzubringen, die zur Unterdrückung des Grenzflächenwiderstandes redoxpaarbildende Substanzen aufweist. Derartige den Grenzflächenwiderstand unterdrückende redoxpaarbildende Substanzen sind bereits in der CH 677 295 beschrieben. Auf den Offenbarungsgehalt wird deshalb ausdrücklich bezug genommen. Die Schichtdicke dieser Schicht liegt dabei im Bereich von 0,1 μm bis 100 μm .

Da kein Elektronentransfer zwischen den Elektroden und der analytspezifischen Schicht während der AC-

Messungen notwendig ist, ist ein direkter Kontakt, wie vorstehend beschrieben, zwischen der Oberfläche des Leiters und der Schicht nicht erforderlich. Somit ist es möglich, solche Messungen mit Elektroden, welche durch einen Luftspalt oder eine isolierende Schicht von der analytselektiven Schicht getrennt werden, mit dem sog. Phänomen der kapazitiven Kopplung durchzuführen. Ebenso ist es möglich, die induktive Kopplung für kontaktlose Messungen der elektrischen Eigenschaften von Schichten zu nutzen. In diesem Fall wird die Schicht in einer Spule plaziert, durch die dann ein Strom fließt. Wirbelströme werden in der Schicht aufgebaut und bewirken einen Leistungsverlust in Abhängigkeit von der Schichtleitfähigkeit. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verwendung von zwei Spulen, welche durch einen Kreisstrom in der Probe verbunden werden.

Erfindungswesentlich bei den hier vorgeschlagenen analytselektiven Sensoren ist die analytspezifische Schicht. Diese Schicht ist dabei so modifiziert, daß sie in Anwesenheit von in Lösungen enthaltenen Ionen bzw. Stoffen ihre elektrischen Eigenschaften ändert. Die Änderung der elektrischen Eigenschaften der analytspezifischen Schicht sind dabei zurückzuführen auf die Verteilung des zu bestimmenden Ions bzw. des Stoffes zwischen der Lösung und der Schicht. Dadurch ändern sich nun die elektrischen Eigenschaften, wie der Widerstand, die Leitfähigkeit, die Admittanz oder die Impedanz.

Dadurch weisen die erfindungsgemäßen analytselektiven Sensoren gegenüber dem Stand der Technik folgende entscheidende Vorteile auf:

1. Bei den erfindungsgemäßen Sensoren wird keine Referenzelektrode benötigt, da die Messungen solcher elektrischer Eigenschaften wie der Leitfähigkeit oder Admittanz, im Gegensatz zu z.B. Potentialmessungen in der Potentiometrie, absolute Messungen sind.

2. Die Sensoren können als hochintegrierte Festkörperkomplettsysteme konstruiert werden, was Ihre Herstellung, Miniaturisierung und Verwendung erleichtert.

3. Das Sensordesign ist kompatibel mit der Mikroelektronik, im besonderen mit IC-Technologie und erlaubt somit die Produktion solcher Sensoren in großen Mengen zu niedrigen Kosten, eingeschlossen Wegwerfsensoren.

Mögliche Sensor-Arrays können mitsamt der Signalverarbeitungselektronik leicht auf einem Substrat integriert werden.

4. Die Arbeitsweise der Sensoren führt zu einer Erweiterung des Detektionsbereiches der zu bestimmenden Spezies im Vergleich zu traditionellen elektrochemischen Detektionstechniken sowie zu einer vergrößerten Auswahl an Materialien, die als selektiv bindende Komponenten in den Sensoren verwendet werden können. Diese Sensoren erlauben im Gegensatz zu potentiometrischen Sensoren die Bestimmung von Analytkonzentrationen in Lösungen mit sehr hoher Ionenstärke. Solange die Messungen der Schichteigenschaften wie der Widerstand oder die Leitfähigkeit absolute Messungen sind, ergeben sich in der Praxis keine Einschränkungen beim Auftreten irreversibler Extraktionen.

Die in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Sensoren können dann als Dosimeter eingesetzt werden. Ein Beispiel dafür ist die Bestimmung von Spuren toxischer Komponenten, z.B. von Schwermetallionen.

5

5. Mit den Sensoren ist eine Messung der Lösungszusammensetzung in verschlossenen Gefäßen, z.B. in zugeschmolzenen Glasampullen, möglich. Voraussetzung ist, daß sich die sensitive Membran innerhalb des Gefäßes befindet, z.B. auf der inneren Oberfläche der Wände, und daß die Änderungen der elektrischen Eigenschaften der Membran von außerhalb des Gefäßes gemessen werden, unter Verwendung von kontaktlosen Meßtechniken.

10

15

Erfindungsgemäß besteht die Schicht aus einer flüssigen, halbfesten oder festen Komponente (Material), so daß die Schicht in der Lage ist, aufgrund ihrer Bulk-eigenschaften oder durch Anwesenheit von analytspezifischen Kopplungselementen den Analyten aus einer Lösung zu extrahieren. Bevorzugt besteht die analytspezifische Schicht aus einem Polymer, das ionenselektive bzw. molekülselektive Kopplungselemente aufweist bzw. enthält, so daß der Analyt selektiv aus der Lösung in diese Polymermembranschicht extrahiert wird. Unter Kopplungselementen werden gemäß der vorliegenden Erfindung u.a. funktionelle Gruppen, Ionenaustauscher, komplexierende Gruppen oder Chelatgruppen, Käfigverbindungen (z.B. Cyclophane, Kronenether, Antibiotica, Cyclodextrine), Antigene oder Antikörper, natürliche oder synthetische Polypeptide, Lektine, spezifisch bindende Proteine, Rezeptor-Proteine, Lipide und Tenside verstanden. Der Begriff Kopplungselemente umfaßt somit alle diese Verbindungen bzw. Reste, die in der Lage sind, die im Analyt enthalte-

20

25

30

35

nen Ionen oder neutralen Teilchen zu binden. Die Schicht kann dabei ein Polymer sein, das selbst diese Kopplungselemente aufweist, d.h. das Polymer selbst hat entsprechende Reste bzw. funktionelle Gruppen oder dem Polymer werden diese Kopplungskomponenten zugesetzt. Durch die selektive Extraktion ist dann eine selektive Veränderung der ionischen Leitfähigkeit verbunden. Es ist dabei nicht entscheidend, ob eine reversible oder irreversible Analytextraktion oder Bindung in der analytspezifischen Schicht stattfindet, da die Messungen der Schichteigenschaften, wie der Widerstand oder die Leitfähigkeit, absolute Messungen sind. Bei irreversiblen Analytextraktionen bzw. Bindungen kann der erfindungsgemäße Sensor als Dosimeter verwendet werden, d.h. die Änderung der elektrischen Eigenschaften der Schicht ist als Summenparameter (Dosis) der Analytspuren in einem Medium aufzufassen, dem der Sensor über einen längeren Zeitraum ausgesetzt ist.

Erfindungsgemäß ist vorgesehen, daß die analytspezifische Schicht auf einen Träger, z.B. auf Glas, Metall, Keramik, Saphir, Plastik oder Polymer in Form von Filmen aufgebracht wird. Die Techniken der Aufbringung der Polymermembranschicht sind dabei an und für sich aus dem Stand der Technik bekannt. Als geeignete Abscheidungsverfahren wären zu nennen:

Abscheidung aus der Lösung, Auftropfen, Dip-Coating, Spraying, chemische-, fotochemische- oder elektrochemische Polymerisation, Spin-Coating oder Fotolithographie.

Hierbei kann es vorteilhaft sein für Flüssigkeiten, die die analytspezifische Schicht bilden, eine poröse

Matrix/Träger (z.B. Filterpapiere, Gewebe, mikroporöses Glas) zur Stabilisierung zu verwenden.

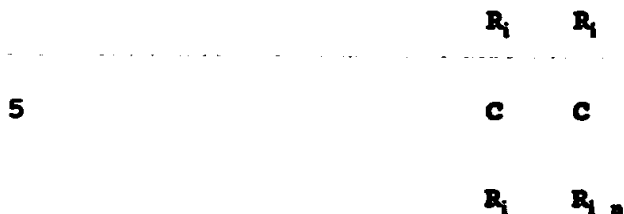
5 Erfindungsgemäß ist es möglich, daß eine Flüssigkeit als analytspezifische Schicht fungiert. Die Spezifität bei der Extraktion des Zielanalyten kann durch bestimmte Bulkeigenschaften der Flüssigkeit, wie z.B. Lipophilie, gesteuert werden. Hierbei kann diese Flüssigkeit ein organisches Lösungsmittel sein, welches nicht oder nur gering löslich in Wasser ist, so daß Zielanalyten aus wäßrigen Medien in diese Flüssigkeit, welche die analytspezifische Schicht bildet, extrahiert werden. Als Beispiele seien folgende Flüssigkeiten genannt:

15 - nichtpolare Lösungsmittel wie Tetrachlormethan, Chloroform, Hexan, Toluol und die meisten aromatischen und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffe.

20 Erfindungsgemäß ist es dabei möglich, die Spezifität bei der Extraktion des Zielanalyten durch bestimmte Bulkeigenschaften der analytspezifischen Polymermembranschicht, wie der Polarität, zu steuern. Auf diese Weise können aus einer wäßrigen Phase lipophile Komponenten in eine Membranphase extrahiert werden, die ebenfalls aus lipophilen Komponenten besteht.

25 Das Polymer ist dabei eine aliphatische Hauptkette mit un- bzw. niedrig polaren Substituenten. Hierbei sind Polymerisate zu nennen, welche die Polymer-schicht auf dem Transducer bilden. Bevorzugt sind diese Homopolymerisate oder Copolymerisate, die aus den Monomereinheiten von Alkenen stammen und gegeben-

nenfalls unpolare oder wenig polare Substituenten tragen:



10 Als Beispiele für Substituenten R_1 seien folgende genannt: $R_1 = -H$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-NO_2$, $-COR$, $-COOR$ (über das Sauerstoffatom oder Kohlenstoffatom an die Polymerhauptkette angebunden), Carbonsäurenitrilgruppen, Carbonsäureamidgruppen, aliphatische/aromatische Ethergruppierungen, aromatische/hetero-aromatische

15 Reste. Das Polymermaterial kann von niedermolekularer bis sehr hochmolekularer Zusammensetzung sein, vorzugsweise jedoch hochmolekular.

20 Von den genannten Homopolymerisaten bzw. Copolymerisaten auf der Basis von Monomereinheiten, die von einem Alken stammen, sind diejenigen speziell bevorzugt, die ein Vinylhalogenidhomopolymerisat, eine Vinylhalogenidcopolymerisat, ein Vinylidenhalogenidhomopolymerisat oder ein Vinylidenhalogenidcopolymerisat sind. In diesen Homo- bzw. Copolymerisaten ist

25 das Halogenatom vorzugsweise ein Chloratom.

Des weiteren kommen als Polymer der festen oder halbfesten Membran auch weitere folgende Polymermaterialien (entsprechende Homo-/Copolymerisate) in Betracht:

30

- Polyester
- Polyamide
- Polyurethane

siliziumenthaltendes Polymermaterial, vorzugsweise ein Silikonharz oder Silikongummi
Cellulosederivate wie Celluloseether oder Celluloseester

5

Aus solchen Polymeren hergestellte feste oder halbste Schichten können ebenfalls organische, lipophile, wasserunlösliche Flüssigkeiten, vorzugsweise Ether und Ester aliphatischer Alkohole, enthalten.

10

Alternativ dazu ist auch eine Detektion von polaren Additiven in organischem Medium, z.B. von Ölen, durch Extraktion in ionisch leitende feste oder halbfeste Polymerfilme möglich, die nicht mischbar mit der Meßlösung sind.

15

In diesem Fall sollte das Polymer der Schicht ein Polymer oder Copolymer mit stark hydrophilen Seitengruppen sein oder nur geringe Anteile an niedrigpolaren oder hydrophoben Gruppen aufweisen. Aus solchen Polymeren hergestellte feste oder halbfeste Schichten können ebenfalls eine wäßrige Elektrolytlösung enthalten.

20

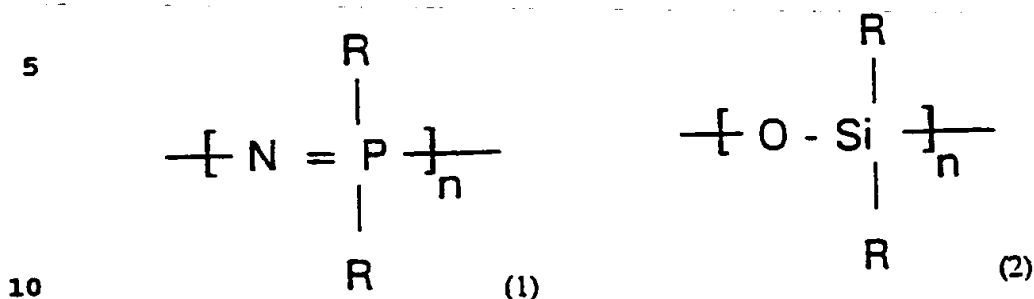
25

Solch ein Film kann z.B. ein fester Polyethylenoxidfilm sein, der Alkalisalze als ionische Additive (Leitsalze) enthält, vorzugsweise Lithiumsalze mit den Anionen CF_3CO_2^- , CF_3SO_3^- , $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{SO}_3^-$, Hgl_3^- , AsF_6^- .

30

Die anderen passenden Polymere, die über eine hohe Kettenbeweglichkeit verfügen, sind z.B. Polyphosphazene (1) und Polysiloxane (2) mit den Seitengruppen R, die über Kationenkomplexierungs- und ionenpaartrennungseigenschaften verfügen, wie z.B. bei Oligoalkylethern der Fall ist. Die erwähnten Polymere kön-

nen durch folgende allgemeine Formeln beschrieben werden:



Bevorzugt sind die Polymere mit $\text{R} = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{---}$.

15

Auf der anderen Seite kann eine Schicht auch so hergestellt werden, daß die spezifische Extraktion des Analyten in die Membranphase von der Affinität des Analytmoleküls gegenüber morphologisch (strukturell) festgelegten Bindungsstellen innerhalb der Schicht bestimmt wird. Dies kann z.B. dadurch erreicht werden, daß die Schicht in Anwesenheit von freien Analytmolekülen, z.B. durch chemische, photochemische oder elektrochemische Polymerisation, hergestellt wird. Man erhält eine nicht kovalente Anlagerung des Analyten an monomere Einheiten, d.h. über ionische, Wasserstoffbrücken-, hydrophobe oder Charge-Transfer-Wechselwirkungen, entgegengesetzt zu den jeweiligen Seiten des Analytmoleküls. Später wird der Analyt durch Waschen oder Hydrolyse entfernt, wobei er seine während der Schichtbildung im molekularen Maßstab erzeugten "Abdrücke" hinterläßt.

30

Diese "Abdrücke" fungieren nun als Bindungsstellen mit erhöhter Affinität gegenüber dem Analyten. Die

35

Affinität ist von der Verteilung der Ladung oder anderer funktioneller Gruppen im Analytmolekül sowie von seiner Form und Größe abhängig. Die Affinität solcher Schichten gegenüber bestimmten Spezies kann unter anderem über die Bedingungen der Schichtbildung oder über das Verhältnis der Schichtkomponenten gesteuert werden. Der Besetzungsgrad der "Abdruck"-Bindungsstellen durch Analytmoleküle kann z.B. die ionische Leitfähigkeit der Schicht beeinflussen, und diese Änderungen können unter Verwendung der zur Erfindung gehörigen Mittel gemessen werden.

Die auf dem Affinitätsprinzip beruhenden Schichten können so angefertigt werden, daß sie dazu in der Lage sind, spezifisch geladene oder neutrale Spezies zu binden oder zwischen optischen Isomeren zu unterscheiden.

Solche Membranen können z.B. aus elektrochemisch hergestellten Polymerfilmen bestehen. Für Filme aus Polypyrrol und Polyanilin ist es z.B. aus dem Stand der Technik bekannt, daß die Selektivitätsreihenfolge des Anionenaustausches durch das bei der Synthese aus der wäßrigen oder organischen Lösung aufgenommene Gegenion bestimmt wird.

Die Baikomponenten, die auf dem Wege der Elektropolymerisation herstellbar sind, sind folgende:

- Heteroaromatische/aromatische Verbindungen, z.B. Thiophene, Pyrrole, Phenole, Aniline, Napthalene, Anthracene, Carbazole.

Die bei der Elektropolymerisation verwendeten Gegenionen können z.B. anorganische oder organische Ionen

sein, Polyionen, Biomoleküle und deren Fragmente. Die Hydrophobizität solch eines Materials kann entweder durch die Verwendung von mit hydrophoben Gruppen modifizierten Monomereinheiten oder durch die Aufnahme von hydrophoben Gegenionen gesteuert werden. Die molekularen Erkennungseigenschaften können optimiert werden durch Hinzufügen funktioneller Gruppen an die Basismonomere, durch Veränderung des Verhältnisses der Monomereinheiten in Copolymeren oder durch Änderung des Ausmaßes an Quervernetzung. Zur Verhinderung von Interferenzen im Meßprozeß, die auf Veränderungen in der inneren elektronischen Leitfähigkeit der Polymeren zurückzuführen sind, können die Polymerfilme elektrochemisch überoxidiert werden, wodurch ein elektronisch nicht leitendes, aber ionisch leitendes Material erzeugt wird. Solch eine Behandlung verhindert gleichzeitig einen Überschuß anionischer Spezies im Polymerfilm. Alternativ dazu kann die molekulare Selektivität des Films auch abgestimmt werden durch Steuerung über den Redoxzustand, d.h. unter Anlegen eines Gleichstrompotentials.

Für die vorstehend beschriebene Ausführungsformen wird vorgeschlagen, daß die analytspezifische Schicht aus einem Polymer besteht, die ionenselektive bzw. molekülselektive Kopplungsstellen aufweist, so daß der Analyt selektiv aus der Lösung in die Schicht extrahiert werden kann. Für diese Ausführungsform wird vorgeschlagen, daß die Polymerschicht ein Ionenleiter ist.

Erfindungsgemäß können diese Polymere komplexbildende Polymere sein, die polymere Chelatbildner, also Produkte, die Chelate bilden können. Sie enthalten entsprechende chelatisierende funktionelle Gruppen in

kovalenter Bindung an Polymere, die unvernetzt oder vernetzt sein können. Komplexbildung dieser Gruppen mit Metall-Ionen kann sowohl intra- als auch intermolekular erfolgen. Komplexierende Gruppen (Liganden) üblicher komplexbildenden Polymere sind Iminodiessigsäure-, Hydroxychinolin-, Thioharnstoff-, Guanidin-, Dithiocarbamat-, Hydroxamsäure-, Amidoxim-, Amino-phosphorsäure-, (cycl.) Polyamino-, Mercapto-, 1,3-Dicarbonyl-, u. Kronenether-Reste mit z.T. sehr spezifischen Aktivitäten gegenüber Ionen unterschiedlicher Metalle.

Basispolymere der komplexbildenden Polymere sind neben Polystyrolen, Polyacrylate, Polyacrylnitrile, Polyvinylalkohole und Polyethylenimine. Die Herstellung der komplexbildenden Polymere erfolgt vorzugsweise in polymeranalogen Reaktionen an vernetzten Polyvinyl-Verbindungen.

Durch polymeranaloge Reaktionen können komplexbildende Polymere sowohl aus natürlichen Polymeren wie Cellulose, Stärke, Lignin oder Chitin als auch aus modifizierten natürlichen Polymeren, z.B. Huminsäuren, gewonnen werden. Ebenso können die Verbindungen kovalent an das Polymer gebunden sein, wie Käfigverbindungen (z.B. Cyclophane, Kronenether, Antibiotica, Cyclodextrine), Antigene oder Antikörper, natürliche oder synthetische Polypeptide, Lektine, spezifisch bindende Proteine, Lipide und Tenside. Beispiele für solche Polymere sind: Polysaccharide mit aktiven Liganden; Poly-Kronenether; Poly-Kronenvinyle; Polyethercopolymere mit aktiven Liganden; Polysaccharide, Polysiloxane und Polyacrylate mit chiralen Selektoren.

Tenside, kolloidales Gold, Graphit, Glas oder anorganische Mikropartikel oder Perlen können eingeschlossen in den Polymerfilmen, als molekulare Carrier dienen.

5

Die selektive Bindung von neutralen oder geladenen Spezies, z.B. Alkalimetallionen, Mg^{2+} , Ca^{2+} oder Übergangsmetallionen, an spezifisch funktionelle Gruppen in der Polymerschicht kann die Änderung der Morphologie und der Porengröße bewirken und zwar

10

(a) Zu-/ Abnahme der Quervernetzung des Matrixpolymers oder

(b) Konformative, molekuläre Änderung der Komponenten der Membranschicht.

15

Änderungen der Morphologie können zur Änderung der elektrischen Eigenschaften der Membranschicht führen, z.B. der ionischen Leitfähigkeit. Dies ist der Fall bei einigen Gelen, Proteinen, besonders Rezeptor-Proteinen, Lipiden und Tensiden, welche funktionelle Gruppen enthalten, die fähig sind, Anionen oder Kationen zu binden oder sensitiv gegenüber lipophilen Komponenten der Probe sind.

20

25

Ebenso können Polymerfilme verwendet werden, die kovalent an das Polymergrundgerüst angebundene Liganden enthalten, welche Ionen zu komplexieren vermögen. Diese Filme können quervernetzt werden, z.B. durch Übergangsmetallionen, wenn diese Ionen Komplexe oder Chelate mit den im Polymer enthaltenen Liganden an verschiedenen Stellen der Polymerkette bilden.

30

Kationen-Rezeptor Polymerschichten, z.B. Mehrphasenpolymerschichten, die sensitiv gegenüber Ca^{2+} sind,

35

können Poly-L-Glutaminsäureketten in einem Block-Copolymer enthalten.

5 Unter den Molekülen, welche fähig sind, konformative
Änderungen, induziert durch Anionen- oder Kationen-
bindung, vorzunehmen, seien Polyionen wie Proteine
und synthetische oder natürliche Polypeptide zu nen-
nen. Besonders die zwei Klassen der polyanionischen
10 Makromoleküle, Proteoglycane und saure Glycoproteine,
zeigen, z.B. für Natrium und Calcium, die oben ge-
nannten Charakteristika. Diese Makromoleküle stellen
Polyanionen dar und zwar entsprechend ihrer carboxy-
lierten, sialischen oder Sulfatgruppen.

15 Wenn die oben beschriebenen Polymerfilme dispergier-
te, leitende Partikel enthalten, bewirkt die Kontrak-
tion des Films eine Zunahme der Film-Leitfähigkeit
entsprechend des erhöhten Kontaktes zwischen den Par-
tikeln. Die leitenden Partikel haben vorzugsweise
20 eine Größe kleiner als 10 μm , bestenfalls kleiner als
1 μm und bestehen z.B. aus einem Halbleiter, Metall
oder Graphit.

25 Die analytspezifische Schicht kann eine geordnete
Struktur haben (d.h. die Komponenten des Mediums bil-
den eine flüssige Kristallphase), eine teilweise ge-
ordnete (z.B. bei den Multi-Doppelstrukturen von Fil-
men, die aus polyionischen Komplexen gebildet werden)
oder eine amorphe. Bei der Extraktion des Analyten in
30 die Membranphase ist eine Auswirkung auf die Kondi-
tionierung der Membranphase möglich, z.B. eine Des-
organisierung, wodurch deren bulkelektrische Eigen-
schaften beeinflusst werden.

Die oben erwähnten Multi-Doppelstrukturen können z.B. aus polyionischen Komplexen zwischen quartären Ammoniumionen einschließlich Tenside und Lipide und aus Polyionen, wie z.B. Polystyrolsulphonat und Polyvinylsulphonat gebildet werden. Die Komponenten solch
5 eines Films sind beispielsweise Dioctadegylldimethylammoniumbromid ($2C_{18}N^+2CBr^-$) und Natriumpolystyrolsulphonat ($PSS-Na^+$).

10 Ionenaustauscher und ionische Polymere können ebenfalls als sensitives Schichtmaterial im Sinne der vorliegenden Erfindung verwendet werden, sofern der Ionenaustausch gegen das detektierte Ion eine Veränderung der elektrischen Eigenschaften der Schicht zur
15 Folge hat.

In dieser Erfindung wird die Defination eines Ionenaustauschers gemäß "RÖMPP CHEMIE LEXIKON, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 9. Auflage, 1989, Bd. 3, Seite
20 2026-2028" verwendet.

Das charakteristische Merkmal eines Ionenaustauschers und ionischen Polymers ist die Anwesenheit einer großen Menge an hydrophilen Gruppen, die an das Polymer gebunden sind. Diese Gruppen können in Kationenaustauschharzen z.B. $-SO_3H$ und $-COOH$ sein, in Anionenaustauschharzen z.B. quartäre Ammoniumgruppen. Solche Polymere, z.B. Persulfonpolymere wie Nafion oder Eastman Kodak AQ-Polymere, können auch wesentliche
25 hydrophobe Bereiche enthalten. Dadurch werden Filme mit heterogener Struktur gebildet, mit getrennt hydrophilen und hydrophoben Regionen. Charakteristisch für diese Materialien ist die Tatsache, daß sie sich durch den Einschluß von Wasser selbst innerlich ver-
30

dünnen und eine lokale Ionisation verhindern, woraus eine Leitfähigkeit nahe der von wäßrigen Elektrolyten resultiert.

- 5 Der Begriff "ionische Polymere" bezieht sich nach der vorliegenden Erfindung auf Polymere, die an das oder in das Grundgerüst des Polymers angebundene basische oder saure funktionelle Gruppen besitzen.
- 10 Definition gemäß "RÖMPP CHEMIE LEXIKON, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 9. Auflage, 1989, Bd. 3, Seite 2038", verwendet. Als ionische Gruppen der ionischen Polymere können u.a. Salze von Carboxy-, Sulfonsäure-, Phosphonsäure-, Ammonium- oder Phosphoniumgruppen
- 15 fungieren.

Nach der Erfindung können die die sensitive Schicht bildenden Ionomere im besonderen folgenden Gruppen angehören:

- 20 • Copolymere von Ethylen, Acryl- oder Metacrylsäure;
- Carboxielastomere;
- Terpolymere;
- 25 • Terpolymer Ethylen-Propylen-Diensulfonat;
- substituierte Polyvinyle wie Polyacrylate, im besonderen Polyacetate oder Butyrale oder Polyvinylimidazole;
- Perfluoropolymere, im besonderen Perfluoro-
- 30 sulfonate.
- Polyampholyte

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform schlägt nun vor, daß die analytspezifische Schicht zusätzlich zu

der vorstehend beschriebenen Polymermaterialien und/-
oder Flüssigkeiten noch ionenselektive bzw. molekül-
selektive Kopplungselemente enthält. Demnach kann die
analytspezifische Polymerschicht einerseits aus einem
5 Polymer bestehen, die selbst entsprechende
Kopplungselemente aufweist, um eine selektive Extrak-
tion des Analyten zu ermöglichen, andererseits ist es
aber auch möglich, daß die Schicht, wie vorstehend
beschrieben ein Polymermaterial und/oder Flüssigkeit
10 enthält und daß zusätzlich ionenselektive oder mole-
külselektive Kopplungselemente zugegeben werden. Als
derartige Kopplungselemente sind bevorzugt Komplex-
bildner für Kationen/Anionen/Neutralteilchen zu nen-
nen. Derartige Komplexbildner ermöglichen dann eine
15 Komplexierung sowie eine Transfer-Beweglichkeit von
Ionen oder neutralen Molekülen in der lipophilen,
sentiven Schicht.

Dieser Komplexbildner sollte lipophile Eigenschaften
20 aufweisen und mit Kationen/Anionen/Neutralteilchen
geladene oder ungeladene Komplexe bilden. Des weite-
ren stellen Anionen-/Kationenaustauscher ebenfalls
Komponenten in der Schicht dar, welche die Beweglich-
keit von Ionen innerhalb der Schicht bewirken. Sowohl
25 die Komplexbildner für Kationen/Anionen/Neutralteil-
chen als auch Anionen-/Kationentauscher mit ihren
lipophilen Eigenschaften können nebeneinander in der
Schicht vorliegen.

Für die oben genannten ionenselektiven oder molekül-
selektiven Komponenten mit lipophilen Eigenschaften
sind in der Literatur viele Beispiele beschrieben,
z.B. die in ionenselektiven Membranen ionenselektiver
Elektroden, Extraktions- oder Maschierungs-Prozessen,
35 eingesetzt werden.

Als Beispiele für ionenselektive Komponenten seien hier genannt:

- 5 • Kationenaustauscher: Diakylphosphate, Tetra-
 traarylborate und deren Salze, z.B. Tetra-
 phenylborat und dessen Silber- und Alkali-
 salze, wie Natriumtetraphenylborat. Die
 Phenylkerne der Tetraphenylborate können
10 unsubstituiert sein oder substituiert, vor-
 zugsweise monochlorsubstituiert in Para-
 stellung.
- Anionenaustauscher: Trialkylmethyllumonium-
 salze, kationsche Metallkomplexe
- 15 • Komplexbildner für Kationen: -cyclische,
 z.B. Makrozyklen wie Kronenether (Alkalise-
 lektivität), natürliche Antibiotika (Vali-
 nomycin - Kaliumselektivität, Nonactin -
 Ammoniumselektivität) nichtcyclische, z.B.
20 Dicarbonsäurediamide (hohe Selektivitäten
 gegenüber Alkali-/Erdalkalitionen), Tridodecy-
 lamin (H^+ -Sensitivität)
- Komplexbildner für Anionen: z.B. Guanidini-
25 umverbindungen, Komplexierung von Oxo-Anio-
 nen wie Phosphat oder Nitrat
- Komplexbildner für Neutralteilchen: z.B.
30 Derivate der Borsäure wie die Boronsäure
 (Komplexbildung mit Glucose), Calixarene
 (Komplexierung von organischen Verbindungen
 wie Tetrachlorethen).

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform schlägt dann noch vor, daß dem festen oder halbfesten Polymer Weichmacher zugesetzt werden. Diese Weichmacher weisen ebenfalls bevorzugt lipophile Eigenschaften auf.
5 Der Einsatz derartiger Weichmacher ist aus der Literatur bekannt. Beispiele hierfür sind:

- -Ether, z.B. o-Nitrophenyloctylether
- -esterweichmacher, hierbei besonders Dicarbonsäurediesterweichmacher, Tetracarbon
10 säure-tetraesterweichmacher, wobei die veresternde Komponente ein aliphatischer Alkohol ist, im allgemeinen mit mindestens fünf Kohlenstoffatomen, z.B. Bis (2-ethyl
15 hexyl) sebacate, Diester der Phosphorsäure oder Phosphonsäure.

Erfindungsgemäß ist es bevorzugt, wenn ein Polymer sowie Weichmacher und ionen- bzw. molekülselektive
20 Komponenten verwendet werden, daß die ionenselektiven oder molekülselektiven Schichten bevorzugt aus folgender Zusammensetzung der einzelnen Komponenten besteht:

25 20 bis 40 Gew. % Polymermaterial
50 bis 75 Gew. % Weichmacher
1 bis 10 Gew. % ionen-molekülselektive Komponenten.

Besonders bevorzugt weisen Polymermembranschichten
30 folgende Zusammensetzung auf:

30 bis 35 Gew. % Polymermaterial
60 bis 65 Gew. % Weichmacher
1 bis 5 Gew. % ionen-molekülselektive Komponenten.
35

Alle Membranen und Membranbestandteile, welche gemäß des Standes der Technik zur Herstellung von potentiometrischen Elektroden verwendet werden können, die selektiv gegenüber neutralen und geladenen Spezien
5 sind, können ebenso für die Herstellung der erfindungsgemäß vorgeschlagenen analytspezifischen Polymermembranschicht eingesetzt werden. Eine Übersicht ist hier bei der folgenden Quelle zu entnehmen:

10 "CRC Handbook of ion-selective electrode: selectivity coefficients"/Ed.

Umezawa Y., CRC Press: Boca Raton, 1990; in Firmenzeitschriften z.B. Selectophore (ionophore for ion-selective electrodes and optrodes) und Quasts, Crowns
15 and Poylesters von Fluka Chemie AG.

Ebenso kann Festkörpermaterial (z.B. kristalline Körper, Einkristalle wie LaF_3 , dotiert mit Eu^{2+} für F^- , polykristalline Ag_2S -Preßlinge, ionische Leiter (z.B. NASICON) oder ionenselektives Glas (z.B. pH-pNa-Elektroden-
20 troden Glas) verwendet werden.

Eine weitere Variante der Erfindung schlägt nun vor, eine wie vorstehend beschriebene analytspezifische Polymermembranschicht zusätzlich mit einer enzym-
25 haltenden Schicht zu versehen. Dadurch können nun entsprechende Biosensoren hergestellt werden. Erfindungsgemäß werden demgemäß auf der analytspezifischen Polymermembranschicht mindestens eine weitere Schicht gebildet, die ein eingeschlossenes oder immobilisiertes Enzym und, falls es nötig ist, auch einen Redoxmediator enthält. Die Arbeitsweise solch eines Biosensors basiert dabei auf der Detektion der Änderung der elektrischen Eigenschaften der analytspezifischen
30 Polymermembranschicht als Folge der biokatalytischen
35

Aktivität des Enzyms in der zusätzlichen enzym-enthaltenden Schicht.

5 Das die Schicht bildende Material enthält vorzugsweise mindestens eine makromolekulare Komponente, welche bevorzugt ein Protein, Polysaccharid oder synthetisches Polymer oder Copolymer ist.

10 Unter den bevorzugten Polymeren seien die nicht enzymatischen Proteine wie Kollagene und Albumine zu nennen. Diese Proteine können vernetzt werden, um eine Membran für die Enzymimmobilisierung zu bilden.

15 Bezüglich der Polysaccharide seien folgende Beispiele zu nennen:

Alginate; Hitin; Cellulose und seine Derivate wie z.B. Nitrocellulose oder Ester und Ether der Cellulose;

20 Natürliche Polymere wie z.B. Polysaccharide haben den Vorteil, daß anorganische Katalysatoren bei der Polymerisation nicht vorhanden sind, was bei synthetischen Polymeren der Fall sein kann. Diethylaminoethyl-Dextran (DEAE-Dextran) oder Polyethylenimin könnten verwendet werden. Es sollten Polysaccharide mit
25 einem Molgewicht von 5.000 bis 500.000, vorzugsweise von 5.000 bis 50.000, ausgewählt werden.

30 Unter den geeigneten Polymeren sind Polyacrylamid-Gele zu nennen; ebenso Vinyl-Polymere, im besonderen Vinylacetate; Polyvinylalkohole, vorzugsweise Polyvinylbutyral.

35 Ebenfalls geeignet sind Polyurethane und Polysiloxane (auch Heteropolysiloxane), welche funktionelle Gruppen, z.B. Aminogruppen, enthalten.

Im Fall von Albumin wird die Vernetzung vorzugsweise mit bi- oder multifunktionellen Reagentien durchgeführt, z.B. Glutaraldehyd und seinen Oligomeren. Hierbei ist zu erwähnen, daß die Vernetzung abhängig von der Expositionszeit mit dem Glutaraldehyd ist, und diese sollte zwischen 10 und 90 Minuten liegen, vorzugsweisen 30 Min. bei Raumtemperatur.

Das Verhältnis Enzym / (Matrixkomponente) ist wichtig für die Diffusionseigenschaften der Membran. Hierbei liegt das Verhältnis im Bereich von 5 bis 100 Gew.%, vorzugsweise zwischen 10 und 50 Gew.%.

Die mechanischen und Adhäsionseigenschaften der enzymatischen Membranen können verbessert werden, wenn die die Membran bildende Lösung einen mehrwertigen Alkohol enthält, vorzugsweise Glycerol oder Sorbitol oder Laktitol. Die bevorzugte Konzentration des mehrwertigen Alkohols liegt im Bereich von 5 bis 30 Vol.%.

Die Anwesenheit eines mehrwertigen Alkohols oder Polysaccharides in der Lösung, aus der die Membran gebildet wird, kann zu einer besseren Bewahrung der Enzymaktivität während der Immobilisierung und somit zu einer erweiterten Lebensdauer des Sensors führen.

Im Hinblick auf immobilisierte Redox-Enzyme kann die enzymatische Membran oxidierende oder reduzierte Agentien enthalten (z.B. Ferrocene), welche fähig sind, das aktive Zentrum des Enzyms zu recyceln.

Ebenso kann das Enzym auf der analytselektiven Schicht durch kovalente Bindung immobilisiert werden. Dieses kann erfolgen, wenn die analytselektive Mem-

bran geeignete funktionelle Gruppen trägt (z.B. -OH, -NH₂, oder -COOH), oder wenn eine zusätzliche Schicht, welche entsprechende funktionelle Gruppen enthält, auf der analytselektiven Membranschicht gebildet wird, so daß das Enzym an die zusätzliche Schicht gebunden ist.

Zur Reduzierung von Störungen und Interferenzen können Differenzmessungen durchgeführt werden. In diesem Fall wird ein Differenzsignal zwischen dem ASIS mit und ohne Enzym gemessen.

Eine weitere Schicht aus vernetzten Proteinen oder synthetischem/natürlichem Polymer kann auf die enzymatische Schicht aufgebracht werden. Diese Schicht verbessert die Biosensoreigenschaften in folgender Weise:

- Gewährleistung optimaler Bedingungen für die Funktionstüchtigkeit des Enzyms;
- Reduzierung des nachteiligen Effektes der Puffer-Kapazität der Probe auf das Ansprechverhalten des Biosensors;
- Ermöglichung der Einstellung des dynamischen und linearen Bereichs des Biosensors.

Um den negativen Einfluß der Puffer-Kapazität für einen Puffer mit schwach sauren Gruppen und $pK < 7$ zu unterdrücken, muß die zusätzliche Schicht funktionelle Gruppen tragen, die bei gegebenem pH-Wert der Probe negativ geladen sind. Für Puffer mit schwach basischen Resten und $pK > 7$ müssen die funktionellen Gruppen bei den Assay-Bedingungen positiv geladen sein.

Weitere Einzelheiten, Merkmale und Vorteile der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von Ausführungsbeispielen und anhand der Zeichnungen.

5

Es zeigen:

Fig. 1 den schematischen Aufbau einer ersten Ausführungsform eines analytselektiven Sensors mit einer analytspezifischen Polymermembranschicht (Chemosensor)

10

Fig. 2 zeigt den schematischen Aufbau eines analytselektiven Sensors in Form eines Biosensors

15

Fig. 3 zeigt beispielhafte Meßelektroden-Anordnungen, bei denen die Leiter in Form von Drähten bzw. in Form von dicken oder dünnen Schichten gebildet sind

20

Fig. 4 zeigt beispielhafte Meßelektroden-Anordnungen, bei denen die Leiter in Form von Scheibenelektroden ausgebildet sind

Fig. 5 zeigt schematisch den Aufbau der Meßelektroden in Form von IDE und eine Meßanordnung für die Messung der Admittanz des Sensors

25

Fig. 6 zeigt die Abhängigkeit des Realteils der Admittanz, $\text{Re}(Y)$, des ASS auf der Basis von IDE unter Verwendung von Valinomycin enthaltenden PVC-Membranen zur Bestimmung der Konzentration an K^+ in der Lösung. Die Messungen wurden bei 100 kHz durchgeführt. 1 M NaNO_3 wurde als Untergrundelektrolyt verwendet.

30

Fig. 7 zeigt die Abhängigkeit des Realteils der Admittanz, $\text{Re}(Y)$, des ASS basierend auf zwei Coated-Wire-Elektroden unter Verwendung von Valinomycin enthaltenden Membranen zur Bestimmung der Konzentration an K^+ in der Lösung. Die Messungen wurden bei 100 kHz durchgeführt 1 M NaNO_3 wurde als Untergrundelektrolyt verwendet.

Fig. 8 zeigt die Abhängigkeit des Realteils der Admittanz, $\text{Re}(Y)$, des ASS auf der Basis von IDE unter Verwendung von Nonactin enthaltenden PVC-Membranen zur Bestimmung der Konzentration an NH_4^+ in der Lösung. Die Messungen wurden bei 100 kHz durchgeführt, 1 M NaNO_3 wurde als Untergrundelektrolyt verwendet.

Fig. 9 zeigt die Abhängigkeit des Kehrwertes des Realteils der Admittanz, $1/\text{Re}(Y)$, des ASS auf der Basis von IDE unter Verwendung von ETH-1907 Ionophor enthaltenden PVC-Membranen zur Bestimmung des pH-Wertes der Lösung. Es wurden Standard-Merck-Puffer verschiedener pH-Werte verwendet. Die Messungen wurden bei 100 kHz durchgeführt.

Fig. 10 zeigt die Abhängigkeit des Realteils der Admittanz, $\text{Re}(Y)$, des ASS auf der Basis von IDE unter Verwendung von Ca-IV Ionophor von Fluka enthaltenden PVC-Membranen zur Bestimmung der Konzentration an Ca^{2+} in der Lösung. Die Messungen wurden bei 100 kHz durchgeführt. 1 M NaNO_3 wurde als Untergrundelektrolyt verwendet.

Fig. 1 zeigt im Schnitt den schematischen Aufbau eines erfindungsmäßen analytselektiven Sensors 1. Der Sensor 1 steht in direktem Kontakt mit der Lösung 4

und ist dabei so aufgebaut, daß die analytspezifische Polymermembranschicht 3 auf einen inerten Träger 7 aufgebracht ist. Die Schichtdicke der sensitiven Schicht 3 kann dabei im Bereich von 0,1 µm bis 1 mm liegen. In der Ausführungsform nach Fig. 1 weisen die Elektroden 5, 6 einen direkten Kontakt mit der Schicht 3 auf. Diese Schicht hat im Beispielsfall nach Fig. 1 folgende Zusammensetzung:

- 32 Gew. % Polymermaterial
- 66 Gew. % Weichmacher und
- 2 Gew. % ionenselektive Komponenten.

Mit einer derartigen Zusammensetzung der analytspezifischen Polymermembranschicht wurden folgende Sensoren hergestellt:

15

1. Kaliumselektive Membran: Als Polymermaterial wurde hochmolekulares Polyvinylchloridhomopolymerisat verwendet, Weichmacher war o-Nitrophenyloctylether. Als kaliumselektive Komponente wurde eine aus dem Stand der Technik bekannte Komponente verwendet, das natürliche Antibiotikum Valinomycin.

20

25

2. Ammoniumselektive Membran: Als Polymermaterial wurde hochmolekulares Polyvinylchloridhomopolymerisat verwendet, Weichmacher war Dibutylsebacate. Als ammoniumselektive Komponente wurde eine aus dem Stand der Technik bekannte Komponente verwendet, das natürliche Antibiotikum Nonactin.

30

35

3. H⁺-selektive Membran: Als Polymermaterial wurde hochmolekulares Polyvinylchloridhomopolymerisat verwendet, Weichmacher war o-Nitrophenyloctylether. Als H⁺-selektive Komponente wur-

de eine aus dem Stand der Technik bekannte Komponente verwendet, Ionophor ETH 1907 (4-Nonadecylpyridine).

- 5 **4. Ca^{2+} -selektive Membran:** Als Polymermaterial wurde hochmolekulares Polyvinylchloridhomopolymerisat verwendet. Weichmacher war o-Nitrophenyloctylether. Als Ca^{2+} -selektive Komponente wurde eine aus dem Stand der Technik bekannte
- 10 Komponente verwendet, Ca-IV Ionophor von Fluka (N,N-Dicyclohexyl-N',N'-dioctadecyl-3-oxapentandiamid).

- Fig. 2 zeigt nun analog dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 1 den schematischen Aufbau eines erfindungsgemä-
- 15 ßen Biosensors. In der Ausführungsform nach Fig. 2 besteht der Biosensor 2 dabei aus einer auf einen Träger 7 aufgebrachten analytspezifischen Polymermembranschicht 8. In der Ausführungsform nach Fig. 2
- 20 sind nun die Elektroden 5, 6 mit einer zusätzlichen Schicht 10 versehen, die den Grenzflächenwiderstand unterdrückt. Diese Schicht 10 enthält redoxpaar-bildenden Substanzen gemäß der CH 677 295. In der Ausführungsform nach Fig. 2 ist weiterhin vorgesehen,
- 25 daß die enzym-enthaltende Polymermembranschicht 9 nicht direkt auf der analytspezifischen Polymermembranschicht 8 aufgebracht ist, sondern daß zwischen diesen beiden Schichten eine weitere Schicht 11 vorgesehen ist, die zur besseren Bindung der Schicht 9 an der Schicht 8 dient. Diese Schicht 11 besteht im
- 30 Beispielsfall aus carboxyliertem oder aminierten PVC und weist eine Schichtdicke von 10 μm bis 1 mm auf. Die enzym-enthaltende Polymermembranschicht 9 kann im Dickenbereich von 1 μm bis 1 mm liegen. Bevorzugt be-
- 35 trägt die Dicke dieser Schicht 10 μm bis 500 μm . Im

Beispielsfall nach Fig. 2 ist nun noch auf der enzym-
enthaltenden Polymermembranschicht 9 eine weitere
Schicht 12 aus vernetztem Protein oder synthetischem
oder natürlichem Polymer vorgesehen. Diese Schicht
verbessert die Biosensoreigenschaften in günstiger
Weise. Diese Schicht besteht im Beispielsfall nach
Fig. 2 aus Nafion oder Acetatcellulose und weist eine
Dicke von 100 μm auf.

Entsprechend dem Aufbau nach Fig. 2 wurden folgende
Biosensoren hergestellt:

1. Biosensoren für Harnstoff- und Aminosäure, wobei
die enzym-enthaltende Polymermembranschicht 9 aus
Urease respektive Aminosäure-Oxidase besteht und die
analytspezifische Polymermembranschicht 8 aus ammoni-
umselektiven PVC-Membran (Ammoniumionophore).

2. Glucose- oder Acetylcolin-Biosensoren, wobei hier
dann die enzymespezifische Polymermembranschicht 9 aus
Glucose-Oxidase bzw. Acetylcolinesterase besteht und
die analytspezifische Polymermembranschicht 8 eine
pH-selektive PVC-Membrane (H^+ -Ionophore) ist.

Fig. 3 zeigt nun beispielhaft Meßelektrodenanordnun-
gen, wie sie für die erfindungsgemäßen Sensoren ein-
gesetzt werden können.

Die praktische Durchführung der Messungen der elek-
trischen Eigenschaften der Schicht betreffend, kann
bevorzugt zwischen zwei grundlegenden Typen von Meß-
zellen unterschieden werden, so wie es in Fig. 3 ge-
zeigt wird:

1. Beide Leiter (11) werden von der Schicht (13) überdeckt, die auf diese Weise eine kontinuierliche Bulkphase bildet. (Fig. 3 a, b);
- 5 2. Jeder der Leiter (11) wird durch die Schicht (13) abgedeckt, aber die Schichten bilden keine kontinuierliche Bulkphase (Fig. 3 c, d);
- 10 3. Nur ein Leiter wird durch die Schicht (13) abgedeckt.

Für den Fall 1 (s. Fig. 3 a) können das Verhältnis zwischen den charakteristischen Abmessungen der Schicht (13) (Dicke - d) und denen der Leiter (11) (geringster Abstand zwischen den Leitern - a , größte Breite der Leitern entlang der Verbindungslinie - b) betreffend zwei charakteristische Fälle ausgeführt werden:

- 1.1 entweder a oder b oder beide sind größer als d ;
- 20 1,2 a und b sind beide kleiner als d

Die Fälle 1.1, 2 und 3 sind in dem Sinne ähnlich, daß bei solchen Anordnungen die Veränderung der Leitfähigkeit der getesteten Lösung, in die die Sensorsonde eintaucht, zum gemessenen Sensor-Output-Signal beiträgt. Die Messungen der spezifischen Analytenkonzentration sind jedoch immer noch möglich, wenn:

- Die Untergrundleitfähigkeit der Probe konstant ist;
- 30 • Die Leitfähigkeit der Probe sehr viel größer ist als die Leitfähigkeit der verwendeten analytspezifischen Membranen.

- Die Sensor-Charakteristika in einer Standardlösung bekannter oder eingestellter Leitfähigkeit vor und nach der Messung in einer Lösung bestimmt wurden.

- 5 • Parallele Messungen der Leitfähigkeit der Probe gemacht und in Betracht gezogen wurden.

Der Fall 1.2 entspricht der Situation, wenn der Anteil der Volumenleitfähigkeit der Probe am Sensor-Output-Signal minimal ist, so daß das gemessene Signal hauptsächlich der Bulkleitfähigkeit der analytselektiven Schicht entspricht.

Die Erfindung umfaßt grundsätzlich folgende Konstruktionsmöglichkeiten des Sensors:

A Drahtelektroden (Abb. 3d). Der Sensor besteht aus zwei Metalldrähten (11), die bis auf die Enden überall mit einem elektrisch isolierenden Polymer (z.B. TFPE, PVC) oder einer anorganischen (Glas-)Schicht (14) mit einer Dicke von über 50 μm , besser mehr als 100 μm , noch besser mehr als 500 μm , überzogen sind. Anstelle der Metalldrähte können auch Koaxialkabel als Meßelektroden verwendet werden. Ein Ende jedes Drahtes (11) ist mit der Meßeinrichtung (15) verbunden. Die analytselektive Schicht (13) wird auf das andere exponierte Ende jedes Drahtes (13) aufgebracht. Die Dicke der so gebildeten analytselektiven Schicht (13) sollte vorzugsweise geringer sein als diejenige der den Rest des Drahtes bedeckenden isolierenden Schicht (14), besonders für den Fall, daß die Schicht eine sehr niedrige Leitfähigkeit aufweist. Während der Messungen werden die Schichtbedeckten Bereiche beider Drähte in der Weise in die

Testlösung getaucht, daß sie so nah wie möglich beieinander liegen (Abb. 3 c).

5 Der Vorteil einer solchen Konstruktion liegt in der äußerst einfachen Herstellung.

10 B Scheibenelektroden (Fig. 4). Zwei miteinander verbundene Drähte oder Bänder (16) werden aufgepreßt oder eingebettet in einen elektrisch isolierenden Plastikblock (17), so wie es in Fig. 4 gezeigt ist. Die an einer Seite des Blocks herausragenden Leitenden werden an die Meßeinrichtung (15) angeschlossen. Die andere Seite des Blocks (17) wird poliert, so daß die Arbeitselektroden eine flache Oberfläche
15 in einer Ebene mit der umgebenden Oberfläche des Plastikblocks bilden. Die analytselektive Schicht wird auf beiden Elektroden simultan oder auf jeder separat aufgebracht. Solch eine Sensorsonde kann direkt in die Testlösung getaucht werden oder mittels O-Ring
20 auf eine Mikro-Durchflußmeßzelle gepreßt werden.

Einer der Vorteile dieser Konstruktionsweise besteht in der Einfachheit der Erneuerung der Sonde lediglich durch Polieren der Meßoberfläche der Elektroden.

25

C Interdigitalelektroden. Zwei Interdigitalelektroden (IDE) oder Leitungsbänder (19) werden auf ein isolierendes Substrat (20) aufgebracht (Fig. 5). Das letztere kann im besonderen ein Polymerband (z.B. Polyimid), Glas, Keramik (z.B. geschmolzenes Aluminium oder Sital) oder Saphir sein. Die Elektrodenmaterialien können aus dem vorstehend Beschriebenen ausgewählt sein, genauso wie die analytspezifische Schicht (22).

35

Die den messenden Teil mit den Kontaktflächen des Sensorchips verbindenden Bereiche der Elektroden müssen durch eine elektrisch isolierende Schicht (21) abgedeckt sein, die nur den elektrischen Abgriff und die sensitive Fläche der Elektrode (19) freilässt. Diese Passivierungsschicht (21) kann entweder ein Polymerfilm sein (z.B. Silikongummi, hochtemperaturvernetztes Polyimid oder Photoresists) oder anorganische Filme wie pyrolytisches Silikonoxid, CVD-Silikonitrid oder aufgebraute Glasfilme.

Der Vorteil bei der Verwendung einer IDE liegt in der Möglichkeit der dichten Anordnung der Elektroden (die Abmessungen a und b können bis in den Submikromaßstab hinein verringert werden) bei gleichzeitig großer Peripherie, was zu einer Erhöhung der Sensitivität der Messung auf einer geringen Fläche führt. Die niedrigste erreichbare Grenze für die Abmessungen a und b liegt bei 0,1 μm , 2 μm bzw. 50 μm , wenn Elektronen-Photolithographie, optische Photolithographie bzw. Siebdrucktechnologie zur Elektrodenherstellung angewandt werden. Die Dicke der Elektroden, h, liegt meistens zwischen 0.01 μm und 10 μm .

Die analytselektive Schicht (22) wird auf der Meßfläche der IDE aufgebracht, die frei von Passivierung ist. Die Schicht muß die gesamte sensitive Fläche der Elektroden (19) abdecken. Da die elektrische Leitfähigkeit der Schicht eher niedrig sein kann (der Widerstand einer lipophilen ionselektiven Membran auf der Basis von PVC kann z.B. eine Höhe von $10^8 \Omega\text{-cm}^2$ erreichen), machen sogar kleine, der Lösung direkt ausgesetzte Teile der Elektrode eine zuverlässige Messung der Membranleitfähigkeit unmöglich, weil ihr Widerstand geringer ist als der Membranwiderstand

selbst, und sie somit den Stromfluß im Meßkreis kurzschließen können.

5 In dem Fall, daß die sensitive Schicht Wasser aufnimmt, und dieselbe Leitfähigkeit wie die Lösung besitzt, sind die Anforderungen an die Qualität der Passivierungsschicht von geringerer Bedeutung, so daß
10 in einigen Fällen eine Passivierung nicht notwendig ist. Dieses ist z.B. der Fall, wenn die Oberfläche der Meßelektroden mit der bedeckenden Schicht viel größer ist als die Fläche von anderen Teilen der Elektrode, welche der Lösung ausgesetzt sind.

15 Die Abmessungen von a, b und h sollten möglichst so gewählt werden, daß das Verhältnis 1.2 (s.o.) erfüllt wird, d.h. die Schichtdicke d sollte am besten größer sein als a sowie b und h. Die Dicke, der den zentralen Teil des Chips bedeckenden Passivierungsschicht, sollte vorzugsweise größer sein als die der Meß-
20 schicht. Für diesen Fall stören Veränderungen in der Untergrundleitfähigkeit der Probe in geringstem Umfang die Messung der Leitfähigkeit der selektiven Schicht.

25 Die Erfindung umfaßt jedoch nicht nur Einzel-, sondern auch Multianalytsonden, die durch das Vereinigen bzw. Integrieren von Mehrfachelektroden auf einer Sensoreinheit oder einem Träger hergestellt werden, überzogen mit für verschiedene Analyten spezifischer
30 Schichten. Sensoren mit mäßiger Selektivität können ebenfalls in einer Multisensoreinheit integriert werden, was zum Erhalt von sog. "Fingerprints" führt, die den unterschiedlichen Zusammensetzungen der Probenlösungen entsprechend. Nachträglich kann dann unter
35 Anwendung verschiedener Methoden der Mustererken-

nung den jeweiligen Ansprechmustern eine entsprechende Probenzusammensetzung zugeordnet werden. Die bevorzugte Konstruktion des Multisensors basiert dabei auf der Verwendung von mikroelektronischen Chips mit der erforderlichen Anzahl der vorstehend beschriebenen Integraldigital-Elektrodenpaaren, wobei jedes Paar mit der geeigneten Schicht überzogen ist. Solch eine Konstruktionsweise hat den Vorteil, der technologischen Kompartibilität mit IC-Technologien sowie der Einfachheit der Miniaturisierung.

Mit den Sensoren, die gemäß dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 1 und nach Fig. 2 hergestellt wurden, wurden Leitfähigkeitsmessungen durchgeführt.

Für die Messung der Admittanz oder Impedanz des Sensors und damit z.B. der Leitfähigkeit der stoffselektiven Schicht sind mehrere Techniken verfügbar, grundsätzlich unterteiltbar in DC- und AC-Techniken (Cooper, W.D., Helfrick, A.D.E., Elektrische Meßtechnik, VCH: Weinheim, Base, Cambridge, New York, 1989). Die AC-Techniken werden im allgemeinen bevorzugt, da sie eine Erniedrigung des Verhältnisses von Signal zu Rauschen erlauben und, besonders in unserem Fall der ionischen Leitfähigkeit, eine Konzentrationspolarisation in der Nähe der Elektrodenoberflächen verhindern.

Alternativ können Messungen der Bulkleitfähigkeit von Schichten mittels der biopolaren Pulstechniken, beschrieben bei Johnson, D.E. and Enke C.G., Biopolar pulse technique for fast conductance measurements, Analytical Chemistry, 1970, v. 42, p. 329 - 335, durchgeführt werden. Die Vorteile dieser Technik bestehen darin, daß sie schnell durchgeführt werden

können (bis zu 10 μ s) und unabhängig von parallelen und seriellen Streukapazitäten sind.

5 Eine der einfachsten für die Messung der Admittanz (Impedanz) des Sensors und damit der Leitfähigkeit der Schicht verwendeten elektrischen Anordnungen ist in Figur 5 dargestellt.

10 Der Lastwiderstand, R_L , wird mit dem zu untersuchen- den Sensor in Reihe geschaltet und der Spannungsab- fall an R_L liefert das Ausgangssignal. Beim Anlegen einer AC-Eingangsspannung ist die Bedingung für den Einsatz einer solchen Anordnung diejenige, daß inner-
15 halb des verwendeten Frequenzbereiches der Eingangs- spannung die Impedanz des getesteten Sensors, Z_{Sensor} , wesentlich größer sein sollte als R_L . In diesem Fall ist der Stromfluß Richtung Lastwiderstand hauptsäch-
20 lich von der Impedanz des Sensors bestimmt und kann leicht nach der Formel

$$I(\omega) = U_{\text{out}}(\omega) / R_L \quad (1)$$

25 berechnet werden. Hier ist ω die Winkelfrequenz der Eingangsspannung, U_{in} , und U_{out} - die Ausgangsspannung.

30 Wenn eine AC-Eingangsspannung angelegt wird, sind so- wohl Amplitude als auch die Phase des Ausgangssignals (Spannung oder Strom) frequenzabhängig. Die Disper- sion (Frequenz-Abhängigkeit) des Ausgangssignals ist unter den oben festgelegten Bedingungen hauptsächlich durch die AC-Impedanz des getesteten Sensors be-

stimmt. Die Admittanz des Sensors kann berechnet werden mit der Formel

5

$$Y = \frac{\operatorname{Re}(U_{\text{out}})}{R_L |U_{\text{inp}}|} + i \frac{\operatorname{Im}(U_{\text{out}})}{R_L |U_{\text{inp}}|} \quad (2)$$

10 Der erste Term auf der rechten Seite stellt den Realteil der Sensoradmittanz

15

$$\operatorname{Re}(Y) = \frac{\operatorname{Re}(U_{\text{out}})}{R_L |U_{\text{inp}}|} \quad (3)$$

20 dar, der proportional zum gemessenen Ausgangssignal ist und mit Hilfe von Gleichung 3 berechnet werden kann, vorausgesetzt daß R_L und die Amplitude der Eingangsspannung bekannt sind.

25 Bei einigen Meßgeräten wird statt der Admittanz Y die Impedanz Z des Sensors gemessen. Die Impedanz Z eines Systems stellt den Kehrwert zur dazugehörigen Admittanz dar. Impedanzmessungen können daher ebenfalls zur Charakterisierung der Leitfähigkeit einer Schicht angewandt werden.

30 Um die Änderungen der Schichtfähigkeit verfolgen zu können, werden in der bevorzugten Verwirklichung der Erfindung die Messungen der Admittanz oder alternativ, einer Phasen-Komponenten des Ausgangssignals der
35 Meßordnung aus Abbildung 5 verwendet. Diese Werte

hängen ebenfalls von der Frequenz ab, und diese Abhängigkeit kann in den verschiedenen Frequenzbereichen variieren. Die übliche Betriebsfrequenz wird unter Einbeziehung dieser Faktoren mit dem Ziel der Optimierung der Sensorempfindlichkeit, der Verringerung der Anforderungen für die Meßeinrichtung sowie der Unterdrückung unspezifischer Störungen ausgewählt.

Der bevorzugte Arbeitsbereich bei den Kontaktmessungen liegt bei Frequenzen zwischen 1 Hz und 100 kHz.

Die bevorzugten Frequenzen für kontaktlose Messungen der Membranleitfähigkeit sind:

- von 1 MHz bis 100 MHz, wenn kapazitive Kopplung verwendet wird;
- von 10 Hz bis 10.000 Hz, wenn induktive Kopplung verwendet wird.

Ausführungsbeispiele

1. Des ASS auf der Basis von IDE

Zwei identische Paare von interdigitalen Metallelektroden (Ni, Pt oder Au) wurden durch Vakuumaufdampfung auf ein 0,5 mm dickes Keramiksubstrat hergestellt. Die Abmessungen eines Sensorchips liegen bei 5 mm * 20 mm. Zur besseren Haftung, im Fall von Pt- oder Au-Elektroden, wurde eine Zwischenschicht aus Chrom (0,1 µm dick) aufgebracht. Jeder Elektrodenfinger war 70 µm breit und ungefähr 1 mm lang mit 70 µm Abstand zwischen den Elektrodenfingern eines Paares. Die sensitive Fläche jedes den impedimetrischen Transducer bildenden Elektrodenpaares betrug ungefähr 1 mm

1,5 mm. Um die sensitive Fläche des Sensors abzugrenzen, wurde der zentrale Teil des Chips mit einer Schicht Dow Corning Silikongummi verkapselt. Das vollständige Chip-Layout ist in Figur 5 schematisch dargestellt.

2. Des ASS basierend auf zwei Coated-Wire-Elektroden (CWE)

Es wurden zwei Silberdrähte mit einem Durchmesser von 1 mm und einer Länge von 3 cm verwendet. Der zentrale Teile jedes Drahtes wurde mit einer Schicht Dow Corning Silikongummi verkapselt, wobei ein Stück von 5 mm Länge auf beiden Seiten der Drähte freigelassen wurde.

Das Aufbringen der ionenselektiven Membran auf die sensitive Fläche der IDE und CWE erfolgte mittels Dip-Coating aus der Lösung der Membrankomponenten in THF.

Die Messungen der Sensor-Admittanz wurden durchgeführt unter Benutzung eines ONO SOKKI Dual Channel Analysers CF 940 oder eines Lock-In-Verstärkers EG & G 5209 entsprechend der Meßanordnung in Figur 5.

Beispiel 1

Die IDE wurden beschichtet mit Valinomycin enthaltende PVC-Membranen. Die Abhängigkeit des Realteils $\text{Re}(Y)$ und des Imaginärteils $\text{Im}(Y)$ -der Admittanz des Sensors von der Kaliumkonzentration wurde überprüft in einem Frequenzbereich von 0,05 Hz bis 100 kHz. Es wurden beobachtet, daß $\text{Re}(Y)$ bei Frequenzen von 100 Hz bis 100 kHz, entsprechend der Membranleitfähig-

keit, mit zunehmender Kaliumkonzentration wächst. Die Nachweisgrnze war im Bereich 10^{-5} M und dieses sogar bei 1 M Natriumnitratlösung als Störionenelektrolyt. Bei einer Frequenz von 100 Hz war die Abhängigkeit $\text{Re}(Y)$ gegen pK^+ quasi linear für den pK^+ im Bereich von 1 bis 4 (Figur 6).

Überraschend war, im Gegensatz zu den in der Literatur berichteten Daten, daß $\text{Im}(Y)$, die entsprechende kapazitive Komponente der Sensorimpedanz, keine oder nur eine zufällige Abhängigkeit von der Kaliumkonzentration zeigte. Dieses war auch bei den weiteren Beispielen der Fall.

Beispiel 2

Die ASS auf Basis von CWE (Coated-Wire-Elektroden) unter Verwendung von Valinomycin enthaltenden PVC-Membranen zeigten eine quasi-lineare Abhängigkeit des $\text{Re}(Y)$ von dem pK^+ im Bereich von 0 bis 4 bei 1 M Natriumnitratlösung als Störionenelektrolyt, gemessen bei einer Frequenz von 100 kHz (Figur 7).

Beispiel 3

Die ASS auf Basis von IDE (Interdigital-Elektroden) unter Verwendung von Nonactin enthaltenden PVC-Membranen zeigten eine Abhängigkeit des $\text{Re}(Y)$ von dem pNH_4^+ im Bereich von 0 bis 5 bei 1 M Natriumnitratlösung als Störionenelektrolyt, gemessen bei einer Frequenz von 100 kHz (Figur 8).

Beispiel 4

Die ASS auf Basis von IDE (Interdigital-Elektroden) unter Verwendung von pH-sensitiven PVC-Membranen (Ionophore ETH 1907) zeigten quasi-lineare Abhängigkeit des $\text{Re}(Y)$ von dem pH im Bereich von 2 bis 8, gemessen bei einer Frequenz von 100 kHz (Figur 9). Es wurden Standard-Merck-Puffer verschiedener pH-Werte verwendet.

Beispiel 5

10

Die ASS auf Basis von IDE unter Verwendung von Ca-IV Ionophor von Fluka enthaltenden PVC-Membranen zeigten eine Abhängigkeit des $\text{Re}(Y)$ von der Ca^{2+} -Konzentration im Bereich von 10^{-7} bis 0,1 M bei 1 M Natriumnitratlösung als Störionenelektrolyt, gemessen bei einer Frequenz von 100 kHz (Figur 10).

15

Patentansprüche

1. Analytselektiver Sensor (ASS) zur qualitativen
5 und/oder quantitativen Bestimmung von in Lösungen
enthaltenen Ionen bzw. Stoffen.
dadurch gekennzeichnet, daß der
ASS (1, 2) aus mindestens einer mit der Lösung
in Kontakt stehenden, auf einem inerten Träger
10 (7) aufgebracht, ionisch leitenden, analytspe-
zifischen Schicht (3, 8) aus einem flüssigen,
festen oder halbfesten Material, besteht, die
mit mindestens zwei Elektroden (5, 6) in Verbin-
dung steht, wobei die Schicht (3, 8) Kopplungs-
15 elemente enthält, welche den Analyten selektiv
aus der Lösung entfernen, so daß sich durch Auf-
nahme des Analyten die elektrischen Eigenschaf-
ten der Schicht (3, 8), wie der Widerstand, die
Leitfähigkeit, die Admittanz oder die Impedanz,
20 ändern.
2. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (5,6)
in direktem Kontakt mit der analytspezifischen
25 Schicht (3, 8) stehen und als zwei oder vier
Elektrodenanordnungen ausgeführt sind.
3. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
30 daß die Elektroden (5, 6) Draht-Elektroden oder
Scheiben-Elektroden oder Interdigital-Elektroden
(IDE) sind.
4. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
35 der Ansprüche 1 bis 3,

dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden-Materialien elektrische Leiter, Halbleiter oder Defektstellenleiter sind.

- 5 5. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 4,
dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenmate-
rialien ausgewählt sind aus Silber, Gold, Pla-
tin, Paladium, Nickel, Tantal, Titan, Chrom,
10 Kupfer, Vanadium, Aluminium oder leitfähigen Pa-
sten und Metall- oder Graphitpartikel enthalten-
den Epoxidharzen oder Materialien auf Kohlen-
stoffbasis oder hochdotiertes Silizium oder
leitfähige Polymere oder zusammengesetzten lei-
tenden Polymeren, die Metall- oder Graphitparti-
15 kel enthalten.
6. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 5,
dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenober-
fläche aufgeraut ist.
- 20 7. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (5,6)
direkt auf den dem Träger (7) angeordnet sind.
- 25 8. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet, daß zwischen den Elek-
troden (5, 6) und der analytspezifischen Schicht
30 (3, 8) mindestens eine weitere Schicht (11) auf-
gebracht ist, die mindestens eine Substanz ent-
hält, die in der Lage ist, ein Redoxpaar zu bil-
den, so daß der Widerstand der Phasengrenze ver-
ringert wird oder konstant bleibt.
- 35

9. Analytspezifischer Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet, daß der inerte Träger
(7) Glas, Papier, Epoxidharz, Plastik, Polymer,
Saphir oder Keramik ist.
10. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (7) die Innenfläche einer Kapillare eines Rohres oder geschlossenen Gefäßes ist.
11. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifische Schicht (3, 8) eine Flüssigkeit ist, welche die Fähigkeit besitzt, den Analyten selektiv aus der Lösung (4) in die Schicht (3, 8) zu extrahieren.
12. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet, daß die Flüssigkeit aus nichtpolaren Flüssigkeiten wie Chloroform, Hexan, Toluol oder aus aromatischen und/oder gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen ausgewählt ist.
13. Analytischer Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytischspezifische Schicht (3, 8) eine Flüssigkeit ist, welche molekülselektive oder ionenselektive Koppelungselemente enthält, so daß der Analyt selektiv aus der Lösung (4) in die Schicht (3, 8) extrahiert wird.

14. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifische Schicht (3, 8) ein Polymer ist, so daß der
Analyt selektiv aus der Lösung (4) in die
Schicht (3, 8) extrahiert wird.
15. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifische Schicht (3, 8) ein Polymer ist, welches
molekülselektive oder ionenselektive Kopplungselemente enthält, so daß der Analyt selektiv aus
der Lösung (4) in die Schicht (3, 8) extrahiert
wird.
16. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14 oder
15,
dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer aus einem Homo- oder Copolymerisat mit einer aliphatischen Hauptkette mit Niedrig- bzw. Unpolarsubstituenten besteht.
17. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14 oder
15,
dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer ausgewählt ist aus Homopolymerisaten bzw. Copolymerisaten von Monomereinheiten, die von einem Alken stammen, wie Vinylhalogenidcopolymerisate, Vinylidenhalogenidhomo- und Copolymerisate, wobei
das Halogenatom vorzugsweise ein Chloratom ist.
18. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14 oder
15,

- dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer ausgewählt ist aus substituierten Polyolefinen, -Polysilanen, -Polysiloxane, -Polyphosphazenen, -Polyester, -Polyamide, -Polyurethane und Cellulosederivate.
19. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 16, 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Substituenten ausgewählt sind aus Wasserstoff, Halogen, NO_2 , COR, COOR, Carbonsäurenitrilgruppen, Carbonsäureamidgruppen, aliphatische/aromatische Ethergruppierungen und aromatische/heteroaromatische Reste.
20. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifische Schicht (3, 8) ein Polyethylenoxidfilm oder ein Polymer wie Polyphosphazene, Polysiloxane ist, welche Kationenkomplexierungs- und Ionenpaartrennungseigenschaften aufweisen.
21. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifische Schicht (3, 8) Alkalisalze als ionische Additive enthält, vorzugsweise Lithiumsalze mit den Anionen CF_3CO_2^- , CF_3SO_3^- , $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{SO}_3^-$, HgI_3^- , AsF_6^- .
22. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer durch chemische, photochemische oder elektrochemische Polymerisation eines polymerisierbaren Monomers ausgewählt aus heteroaromatischen/aromatischen

Verbindungen z.B. Thiophene, Pyrrole, Phenole, Aniline, Azulene Napthalene, Anthracene, Carbazole in Gegenwart von freien Analytmolekülen hergestellt wird, und daß anschließend das Analytmolekül aus dem Polymer ausgewaschen wird, so daß sich während der Membranbildung im molekularen Maßstab "Abdrücke" des Analyten bilden, die dann als Kopplungselemente mit erhöhter Affinität gegenüber dem Analyten wirken.

23. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer ein komplexbildendes Polymer ist, dessen vernetzte oder unvernetzte Basispolymere neben Polystyrolen, Polyacrylate, Polyacrylnitrite, Polyvinylalkohole, Polyethylenimine, Polysiloxane, Polysaccharide, modifizierte Cellulose, Stärke, Lignin, Chitin sind, wobei das Polymer in Gegenwart von komplexierenden Gruppen bzw. Chelatgruppen gebildet wird, so daß analytspezifische Kopplungselemente entstehen.

24. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß die komplexierenden Gruppen bzw. Chelatgruppen ausgewählt sind aus Iminodiessigsäure-, Hydroxychinolin-, Thioharnstoff-, Guanidin-, Dithiocarbamat-, Hydroxamsäure-, Amidoxim-, Aminophosphorsäure-, (cycl.) Polyamino-, Mercapto-, 1,3-Dicarbonyl-Reste, Käfigverbindungen (z.B. Cyclophane, Kronenether, Antibiotica, Cyclodextrine), Antigene oder Antikörper, natürliche oder synthetische Polypeptide, Lektine, spezifisch bindende Proteine, Lipide und Tenside.

25. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet,
daß das Polymer ausgewählt ist aus Polyionen,
wie Gelen, Proteinen, Lipiden und Tensiden, ist,
5 die funktionelle Gruppen (Kopplungselemente)
aufweisen, die Anionen oder Kationen selektiv
binden können, so daß bei der selektiven Bindung
eine Morphologieänderung des Polymers eintritt.
- 10 26. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 25,
dadurch gekennzeichnet,
daß das Polymer aus Proteoglycane oder Glycopro-
teinen besteht.
- 15 27. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifi-
sche Schicht (3, 8) aus einer kristallinen Flüs-
sigphase besteht.
- 20 28. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifi-
sche Schicht (3, 8) aus polyionischen Komplexen
zwischen quartären Ammoniumionen und weiteren
Polyionen gebildet ist.
- 25 29. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 14,
dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer ein Io-
nenaustauscher oder ein ionisches Polymer ist.
- 30 30. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 29,
dadurch gekennzeichnet, daß die Ionenaustauscher
bzw. ionischen Polymere ausgewählt sind aus Co-
polymeren von Ethylen, Acryl- oder Met-
acrylsäure: Carboxielastomere, Terpolymere, Ter-
polymer Ethylen-Propylen-Diensulfonat, substitu-
35

ierte Polyvinyle wie Polyacrylate, im besonderen Polyacetate oder Butyrate oder Polyvinylimidazole, Perfluoropolymere, im besonderen Perfluorsulfonate, Polyampholyte.

5

31. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 14 bis 30, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer zusätzlich ionenselektive oder molekülselektive Kopplungselemente enthält.
- 10
32. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß die Kopplungselemente ausgewählt sind aus Kationenaustauscher, Anionenaustauscher, Komplexbildner für Kationen, Komplexbildner für Anionen und Komplexbildner für Neutralteilchen.
- 15
33. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 31 oder 32, dadurch gekennzeichnet, daß die Komplexbildner ausgewählt sind aus Kronenether, natürlichen Antibiotika, Dicarbonsäurediamiden, Tridodecylamin, Guamidiniumverbindungen, Derivaten der Borsäure, Calixarenen, Cyclophanen, Lipiden, Tensiden.
- 20
- 25
34. Analyselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 14 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymer zusätzlich einen Weichmacher enthält.
- 30
35. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß der Weichmacher ausgewählt ist aus Ethern wie o-Nitrophenyloctylet-
- 35

her, Ester-Weichmacher wie Dicarbonsäurediester-
weichmacher oder Diester der Phosphorsäure bzw.
Phosphonsäure.

- 5 36. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 35,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifi-
sche Schicht (3, 8) eine Dicke von 1 μm bis 1
mm aufweist.
- 10 37. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 36,
dadurch gekennzeichnet, daß die analytspezifi-
sche Schicht aus 20 bis 80 Gewichtsprozent Poly-
15 mer, 20 bis 80 Gewichtsprozent Weichmacher und 1
bis 60 Gewichtsprozent Ionen- bzw. molekülselek-
tiven Komponenten besteht.
- 20 38. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 37,
dadurch gekennzeichnet, daß zur Stabilisierung
der analytspezifischen Schicht (3, 8) ein porö-
ser Träger/Matrix (z.B. Filterpapiere, Gewebe,
Glas) verwendet wird.
- 25 39. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem
der Ansprüche 1 bis 38,
dadurch gekennzeichnet, daß auf der analytspezi-
fischen Schicht (3, 8) mindestens eine weitere
30 enzymenthaltende Schicht (9) aufgebracht ist.
40. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 39,

dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht (9) ausgewählt ist aus vernetzten Proteinen, wie Kollagene, Albumine, natürlichen Polymere wie Polysaccharide, wie z.B. Alginate, Hitin oder Cellulose und seiner Derivate, wie Nitrocellulose, synthetischen Polymere wie Vinylpolymere, Polyvinylalkohole oder Vinylacetate, Polysiloxane, Polyacrylamide, Polyurethane.

5

10

41. Analytselektiver Sensor nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, daß die Enzyme in der Schicht immobilisiert sind.

15

42. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 39 bis 41, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis Enzym zu Matrixkomponente im Bereich von 5 bis 100 Gewichtsprozent liegt.

20

43. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 40, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen der analyt-spezifischen Schicht (3, 8) und der enzymenthaltenden Schicht (9) eine zusätzliche Schicht (11) aufgebracht ist, die aus Derivaten der Cellulose oder der Vinylpolymere besteht und funktionelle Gruppen ausweist, so daß eine verbesserte Verbindungs-bildung erreicht wird.

25

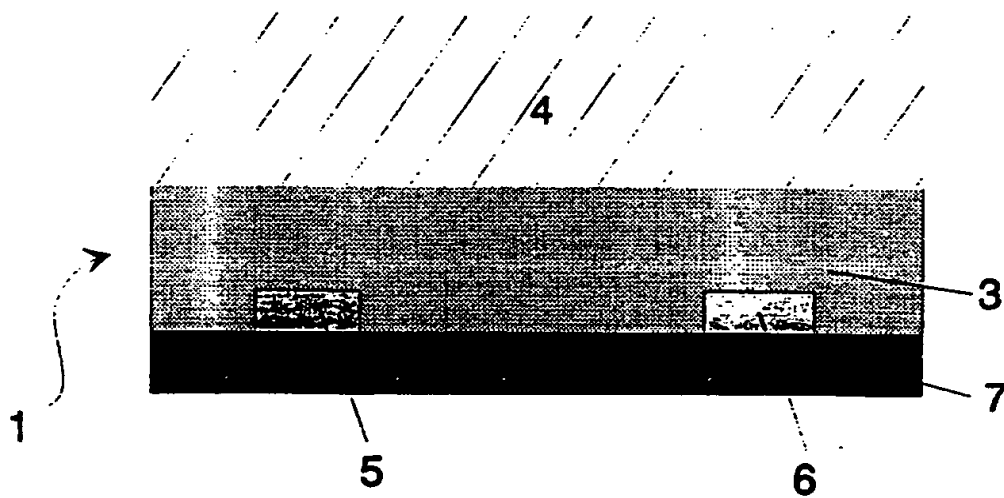
30

44. Analytselektiver Sensor nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 43, dadurch gekennzeichnet, daß eine zusätzliche Schicht (12) vorgesehen ist, die auf der analyt-spezifischen Schicht (3, 8) bzw. auf der enzymatischen Schicht (9) aufgebracht ist und ausge-

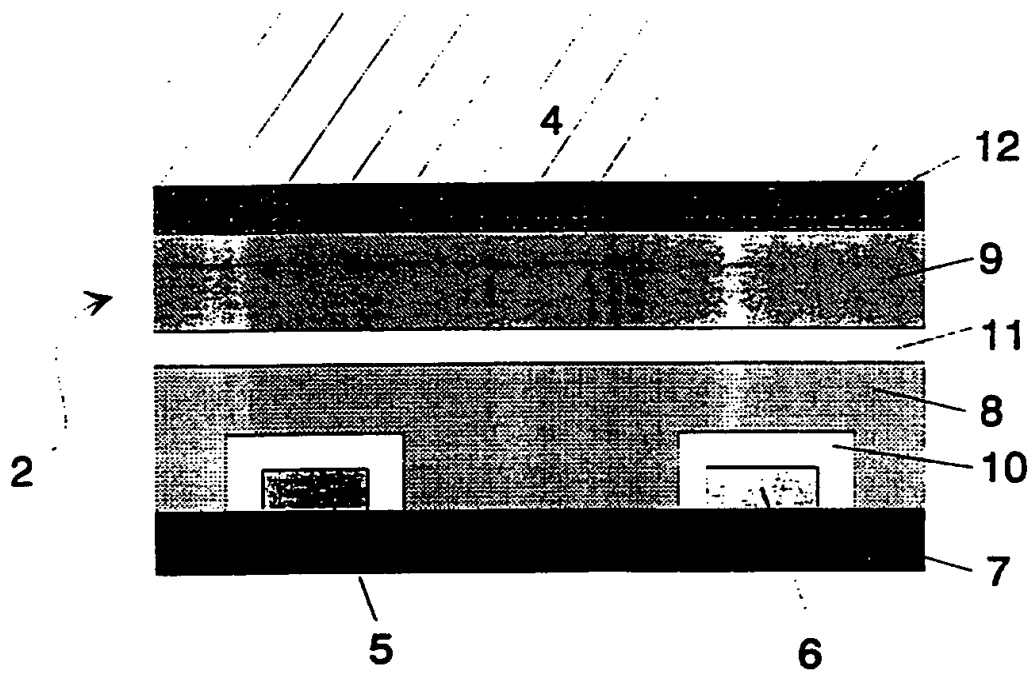
35

5 wählt ist aus Copolymeren von Ethylen, Acryl- oder Metacrylsäure: Carboxielastomere, Terpolymere, Terpolymer Ethylen-Propylen-Diensulfonat, substituierte Polyvinyle wie Polyacrylate, im besonderen Polyacetate oder Butyrale oder Polyvinylimidazole, Perfluoropolymere, im besonderen Perfluorosulfonate, Polyampholyte.

Figur 1

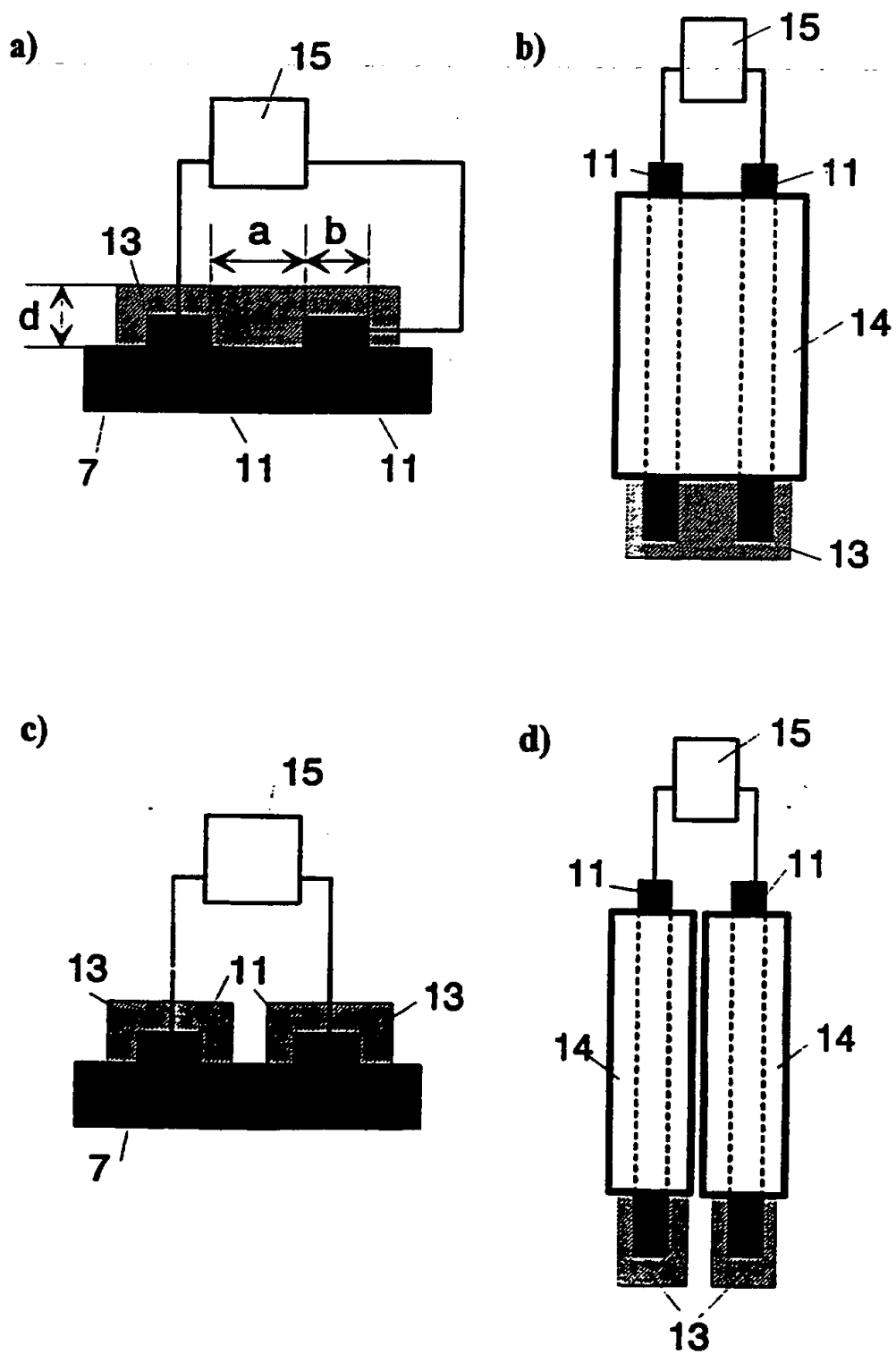


Figur 2



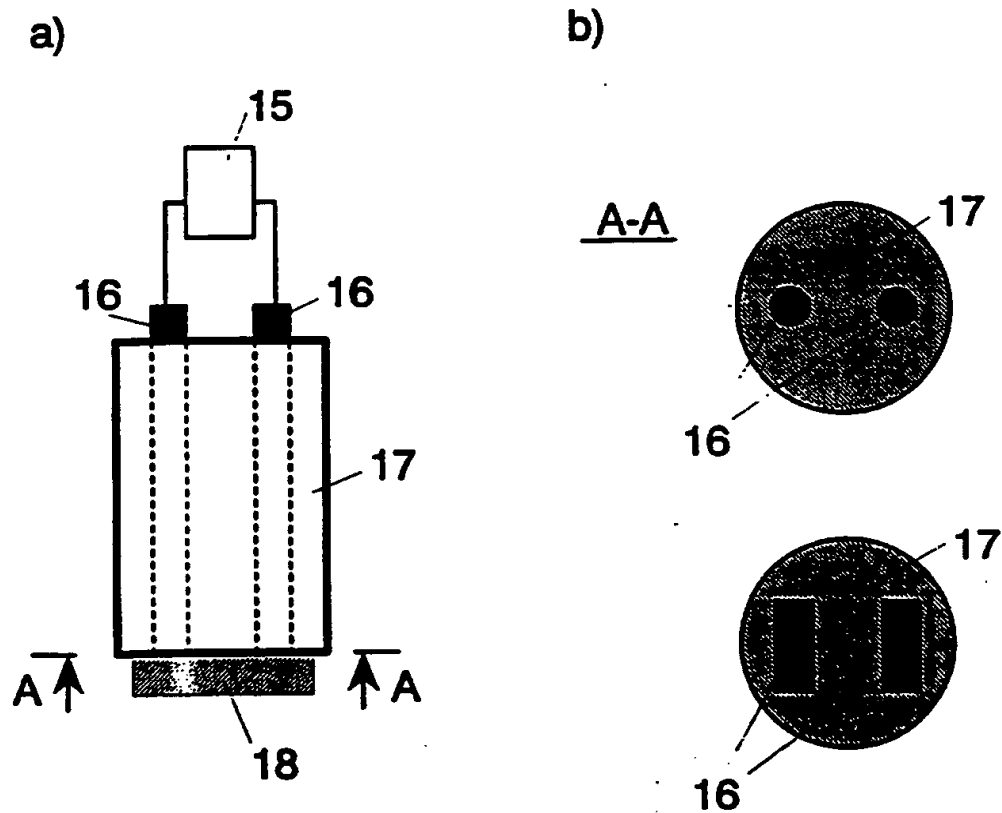
3/10

Figur 3

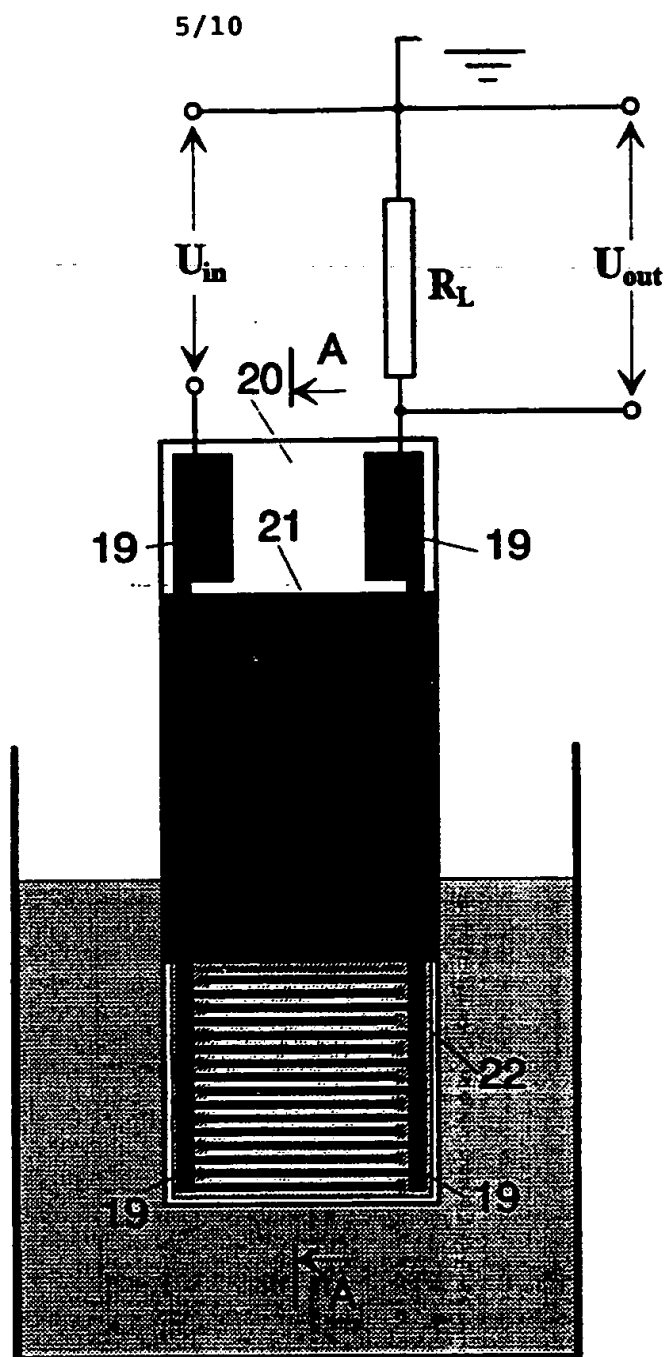
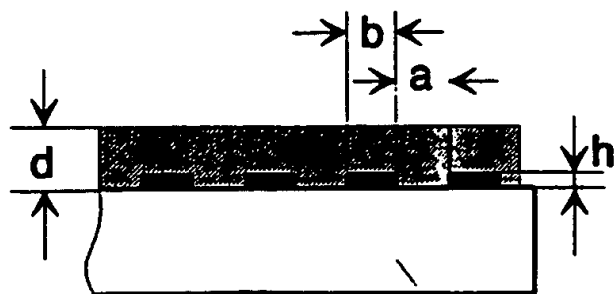


4/10

Figur 4

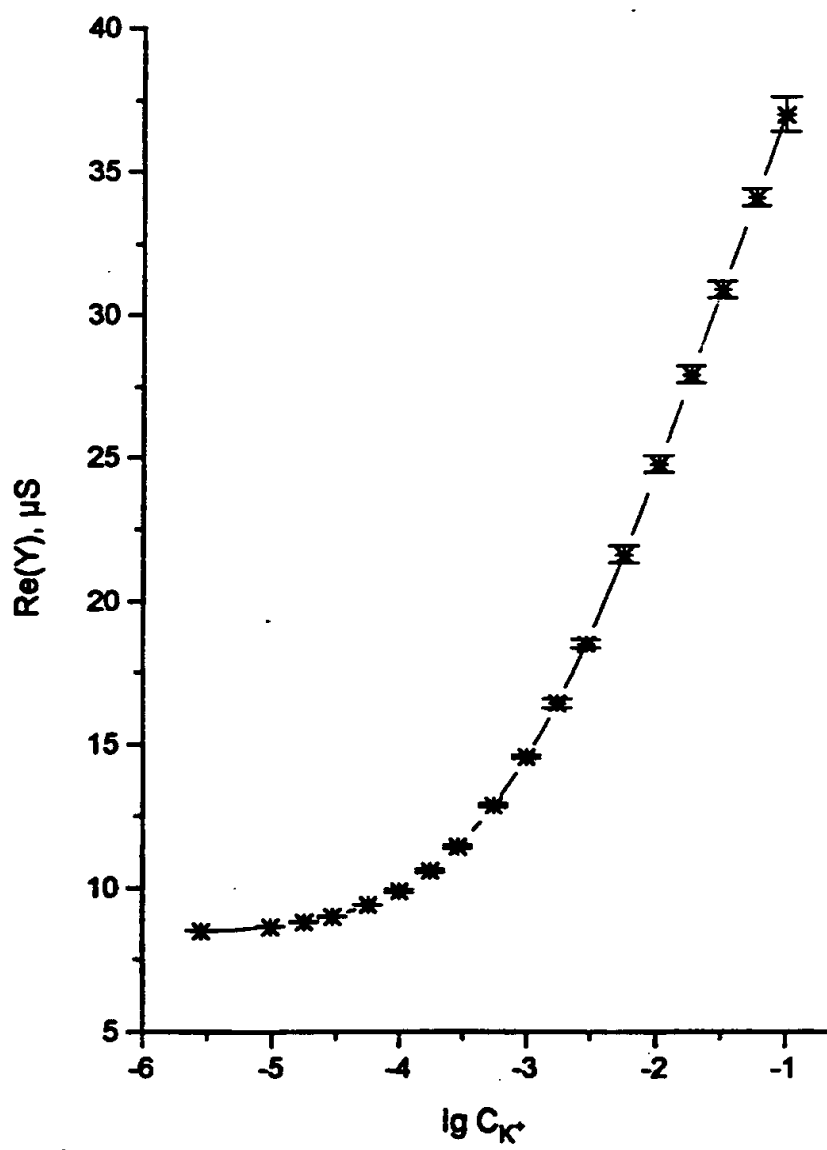


Figur 5

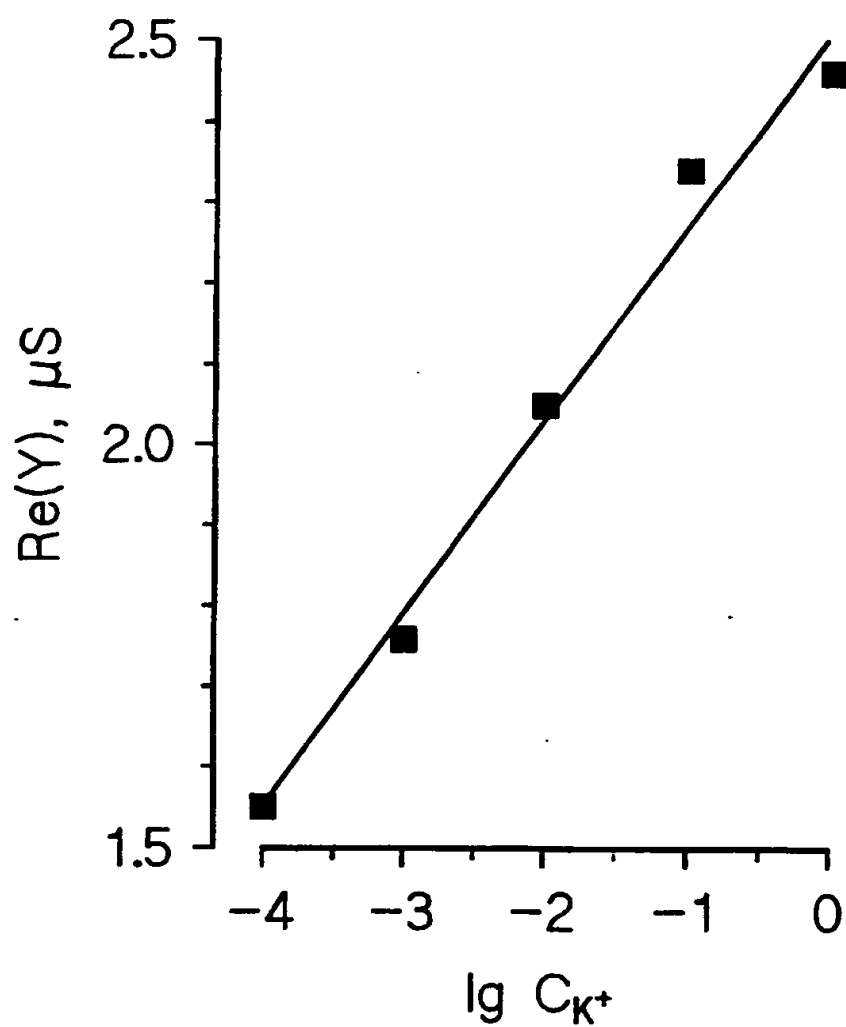
A-A

6/10

Figur 6

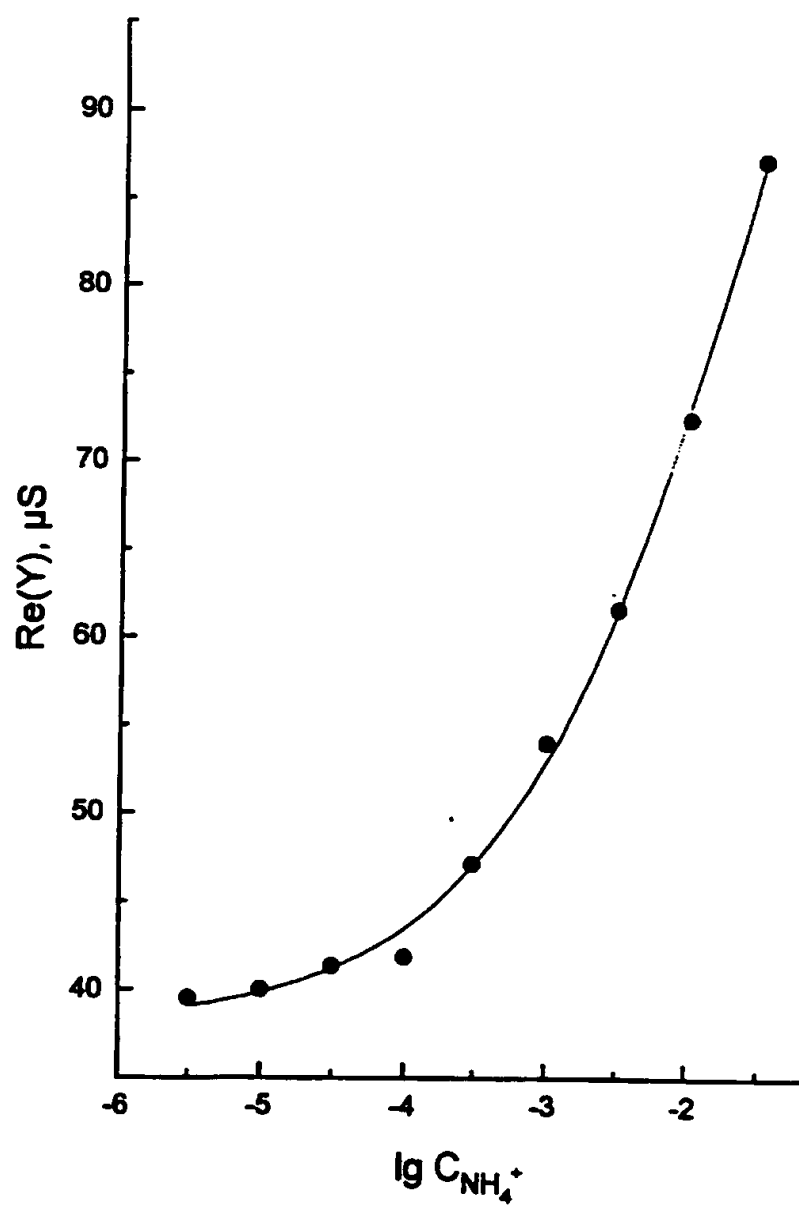


Figur 7



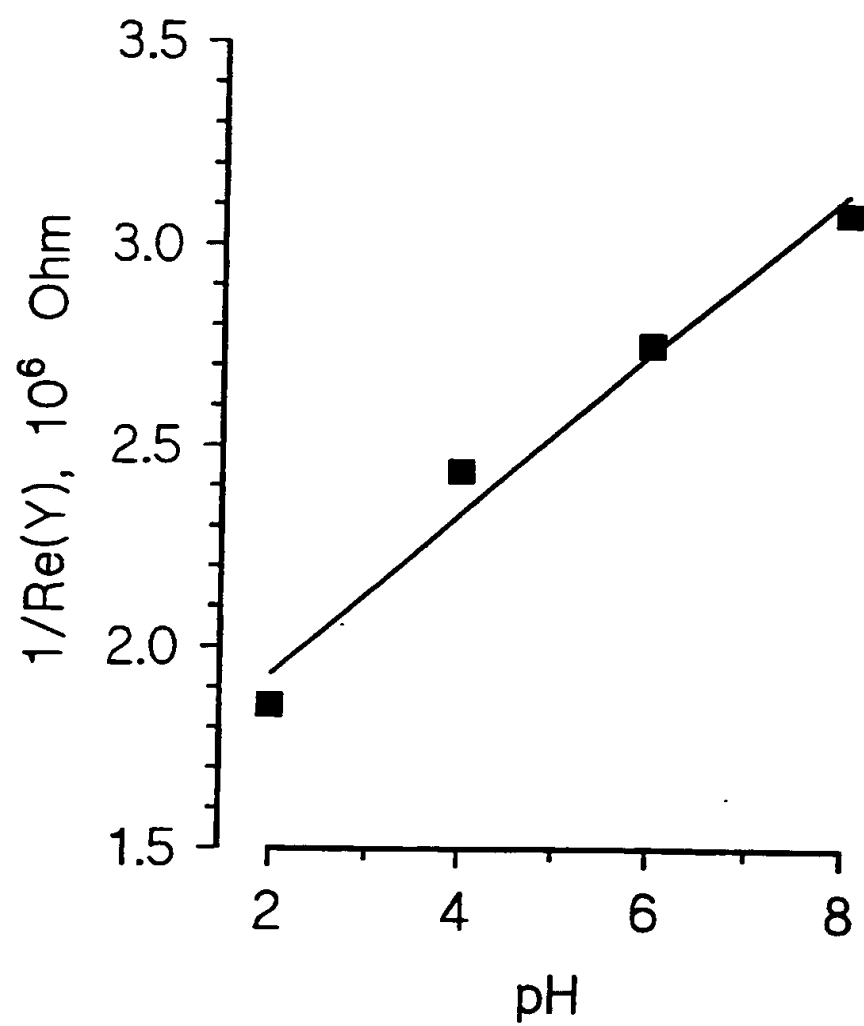
8/10

Figur 8



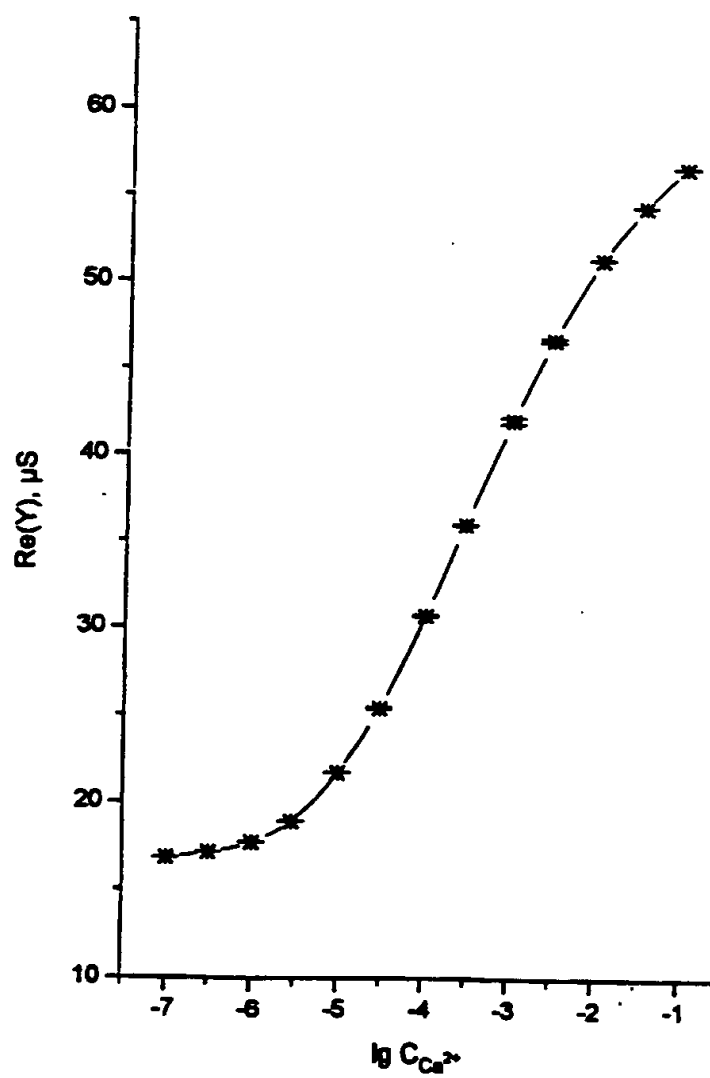
9/10

Figur 9



10/10

Figur 10



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 95/01458

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 G01N27/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP,A,0 096 095 (MALMROS, MARK K.) 21 December 1983 see abstract see page 7, line 13 - line 16; figures 1,3 ---	1
A	GB,A,2 137 361 (LEONARD S. RAYMOND ET AL.) 3 October 1984 cited in the application see abstract; figure 1 ---	1,3
A	CH,A,677 295 (WILHELM SIMON) 30 April 1991 cited in the application see abstract see column 14, line 16 - line 31 ---	1,8,14, 34
A	GB,A,2 139 761 (SHARP) 14 November 1984 see abstract; figure 1 -----	1,5,9

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 January 1996

Date of mailing of the international search report

08.02.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kempf, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 95/01458

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-96095	21-12-83	NONE	
GB-A-2137361	03-10-84	US-A- 4571543	18-02-86
		AU-B- 2595684	04-10-84
		CA-A- 1212260	07-10-86
		DE-A- 3411501	25-10-84
		FR-A- 2543684	05-10-84
		JP-A- 59230153	24-12-84
		NL-A- 8400952	16-10-84
CH-A-677295	30-04-91	NONE	
GB-A-2139761	14-11-84	JP-C- 1615871	30-08-91
		JP-B- 2042428	21-09-90
		JP-A- 59173743	01-10-84
		DE-A- 3410578	04-10-84
		US-A- 4496931	29-01-85

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 95/01458

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 G01N27/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK.

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP,A,0 096 095 (MALMROS, MARK K.) 21.Dezember 1983 siehe Zusammenfassung siehe Seite 7, Zeile 13 - Zeile 16; Abbildungen 1,3	1
A	GB,A,2 137 361 (LEONARD S. RAYMOND ET AL.) 3.Oktober 1984 in der Anmeldung erwähnt siehe Zusammenfassung; Abbildung 1	1,3
A	CH,A,677 295 (WILHELM SIMON) 30.April 1991 in der Anmeldung erwähnt siehe Zusammenfassung siehe Spalte 14, Zeile 16 - Zeile 31	1,8,14, 34
A	GB,A,2 139 761 (SHARP) 14.November 1984 siehe Zusammenfassung; Abbildung 1	1,5,9

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"I" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindnerischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindnerischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

9. Januar 1996

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

08.02.96

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tlx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Kempf, G

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Inter. nales Aktenzeichen

PCT/DE 95/01458

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-96095	21-12-83	KEINE	
GB-A-2137361	03-10-84	US-A- 4571543	18-02-86
		AU-B- 2595684	04-10-84
		CA-A- 1212260	07-10-86
		DE-A- 3411501	25-10-84
		FR-A- 2543684	05-10-84
		JP-A- 59230153	24-12-84
		NL-A- 8400952	16-10-84
CH-A-677295	30-04-91	KEINE	
GB-A-2139761	14-11-84	JP-C- 1615871	30-08-91
		JP-B- 2042428	21-09-90
		JP-A- 59173743	01-10-84
		DE-A- 3410578	04-10-84
		US-A- 4496931	29-01-85